ERGEBNISSE MIT DEM VICKERS CYTOLOGY SCREENING APPARATUS (V.C.S.A.)

Albert Bauer

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546016_0013

AUS DER I. FRAUENKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof.Dr.med.J.Zander

E R G E B N I S S E M I T D E M

V I C K E R S C Y T O L O G Y S C R E E N I N G

A P P A R A T U S (V.C.S.A.)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt

von

A l b e r t B a u e r

München, 1972

Referent : Prof.Dr.H.J.Soost

Correferent : Prof.Dr.J.Zander

Dekan : Prof.Dr.Spann

Tag der mündlichen Prüfung :

22. Februar 1972

UNIV. LEIDEN BIBL.

G l i e d e r u n g

A Einleitung

I. Warum automatische Durchmusterung?

II. Bisherige Versuche auf diesem Gebiet

III. Die theoretischen Vorarbeiten für den VCSA

B Vickers Cytological Screening Apparatus (VCSA)

I. Die Fixierung

II. Die Auftragemaschine

III. Die Färbemaschine

1. Einlegen des Films
2. Färbebecken
3. Einbettung
4. Deckglas
5. Bedienung der Maschine

IV. Die Vormusterungsmaschine

1. Optik und Strahlengang
2. Kerngröße und Kerndichte
3. Mechanik

C Versuchsergebnisse mit dem VCSA

I. Material und Arbeitsmethode

II. Punchursachen

III. Punchzahl

1. Falsch positive-falsch negative Präparate
2. Wovon hängt die Zahl der Punches pro Präparat ab?
   a) Einfluß von Materialreichtum und Abstrichentnahme auf die Zahl der Punches
      aa) Zusammenhang: Abstrichentnahme-Zellreichtum
      bb) Zusammenhang: Zellreichtum-Punchzahl
      cc) Zusammenhang: Abstrichentnahme-Punchzahl
   b) Einfluß von positiven Präparaten auf die Zahl der Markierungen
   c) Unterschiedliche Beeinflussung der Punchzahl durch Präparate der Pap.-Gruppe I und II

IV. Markierung positiver Präparate durch den VCSA
1. Überblick - Problem des Materialmengels
2. Inwieweit werden pos.Gesichtsfelder auf dem Film markiert?
Tabelle - Ergebnisse
3. Diagnostische Sicherheit des VCSA bei den einzelnen Pap.-Gruppen
4, Einfluß des Materilareichtums auf die Diagnostik positiver Präparate durch den VCSA
5. Warum werden pos.Kerne übersehen?
a) Kernmessungen an der Vormusterungsmaschine
b) Ergebnis
6. Die Wahl des richtigen Filters
7. Variation des Limit der Kerngröße
V. Veränderung der Kerngröße durch den VCSA?
VI. Der Zeitaufwand bei Herstellung und Durchmusterung von loo Präparaten
VII. Technische Mängel und Verbesserungen

D Diskussion
1. Beurteilung des VCSA im jetzigen Zustand
2. Grundsätzliche Probleme
3. Zukunftsaussichten und Verbesserungsvorschläge für den VCSA

E Anhang:
Erprobung einer schleimlösenden Fixierlösung
I. Die Fixierlösung
II. Material
III. Qualität der Präparate
IV. Verringert sich die Zahl falsch positiver Markierungen?
V. Verbessert die schleimlösende Fixierlösung die Erfassung positiver Präparate?
VI. Zusammenfassende Beurteilung dieser Ergebnisse

F Zusammenfassung
G Literaturverzeichnis

A Einleitung

1. Warum automatische Durchmusterung ?

Die Zytodiagnostik ist mit annähernd 95 % Treffsicherheit die Methode der Wahl, Collum Carcinoma und deren Vorstadien noch vor dem Auftreten von Symptomen zu diagnostizieren.
Es wäre wünschenswert, wenn sich jede Frau bereits vom 25., spätestens vom 3o. Lebensjahre an in regelmäßigen Abständen von einem Jahr zytologisch untersuchen ließe, um das vor allem bei jungen Frauen vorkommende Carcinoma in situ, eine fakultative Vorstufe des Collum Carcinoms, zu erfassen. Würde sich aber auch nur ein Fünftel der weiblichen Bevölkerung Deutschlands in dem in Frage kommenden Alter vorsorglich untersuchen lassen, so wäre die Kapazität von zytologischen Fachkräften und Labors erschöft (SOOST -(23)).
Um Massenuntersuchungen in Deutschland und anderen Ländern trotz des bestehenden Engpasses an Fachkräften durchführen zu können, wird seit Jahren der Einsatz einer automatischen Durchmusterung der Präparate diskutiert und erprobt (FLASKAMP et al -(9); WIED -(3o)). Auch dann würden die Fachkräfte noch benötigt, da erstens durch gezielte Aufklärung die Untersuchungen um ein Vielfaches anstiegen, zweitens die wichtigen Fälle - wie bisher - von erfahrenen Zytologen nachgesehen werden müßten und drittens die Zytologie auch anderen Fragestellungen als der Krebsfährtensuche dient, z.B. Feststellung von hormonellem Status.

Das Problem ein Gerät zu entwerfen, das mit der erforderlichen Sicherheit arbeitet, liegt darin, daß der Zytologe auch mit Erfahrung und Intuition arbeiten muß, die man einer Maschine nicht vermitteln kann. Für die Maschine benötigt man ein oder mehrere meßbare Parameter. Es wurde versucht, einzelne Kriterien chemischer und physikalischer Art zur Trennung von suspekten und normalen Zellen heranzuziehen.

2. Bisherige Versuche zur automatischen Durchmusterung von Zellabstrichen

Eines der Kennzeichen maligner Zellen ist die Hyperchromasie der Zellkerne, beruhend auf vermehrtem DNS und RNS Gehalt der Krebszelle. Die Affinität des fluoreszierenden Farbstoffes Acridine Orange (AO) an DNS und RNS versuchte man zu verwerten. Das Ergebnis erwies sich als unspezifisch: Leukozytenzusammenballungen, Überlappungen u.ä. fluoreszierten ebenfalls. Mit einer Treffsicherheit von 5o% hatte diese Methode wenig Chancen.
(STEVENSON -(26);WIED at al.-(29); LÖWHAGEN -(1o)).
Der Nachweis hoher Konzentrationen an Succinatedehydrogenase wurde von Ku Chien-Jen untersucht.
MONTANARI et al.(19) bezeichnete nach Überprüfung diesen Text als einfach in der Durchführung und ziemlich zuverlässig (97%) bei Frühstadien. SHD wird mit Triphenyltetrazolium unter Zusatz von Puffer und Methylenblau (als Indikator) durch Farbumschlag nachgewiesen. In bereits nekrotischem Gewebe des Adenocarcinoms sinkt die Treffsicherheit (6o% falsch negativ), da hier die SHD-Aktivität nachläßt.
Laktat Dehydrogenase und Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase finden sich verstärkt bei Tumorzellen mit hoher Enzymyktivität. Da auch Parabasalzellen und Endocervicalzellen diese Aktivität- relativ gesehen - zu stark bieten, lassen sich diese Enzyme nicht diagnostisch verwerten (BLONK -(2)). Zwei Jahre vorher hatten LONGNECKER und WHITE -(11) die Messungen der 6-PGD-Aktivität verworfen, als sich zeigte, daß diese bei Ca in situ nur gering vorhanden ist oder fehlt.
1955 wurde in den Vereinigten Staaten mit Unterstützung des Gesundheitsministeriums der sog. Cytoanalyzer entwickelt, eine Apparatur, die die Präparate auf Grund von Kerngröße und Kerndichte automatisch diagnostiziert (DIACUMAKOS et al.-(5),(6); BOSTROM et al.-(4); SPENCER et al.-(24)).
loo auf gläserne Objektträger aufgetragene Abstriche wurden in ein Magazin seitlich des Mikroskops gegeben und von dort jeweils einzeln automatisch unter das Mikroskop transportiert. Die

Durchmusterung selbst erfolgte durch automatische Verschiebung des Mikroskoptisches, sowohl in die x- als auch in die y-Achse. Die Kerndichte wurde auf Grund ihrer Absorption photometrisch, die Kerngröße als Zeitdauer gemessen. (Vgl.Vormusterungsmaschine des VCSA).Von 2o verschiedenen erprobten Färbemethoden wurde Weigert Hämatoxylin-Tetrazine verwendet. Die Durchmusterungsdauer pro Präparat betrug 5 min.
1961 wurde dieses Unternehmen als gescheitert aufgegeben. Leukozytenzusammenballungen, Zellüberlagerungen u.ä.konnten vom Cytoanalyzer nicht hinreichend von Zellkernen unterschieden werden.
Dennoch war die Konstruktion des Cytoanalyzers nicht vergebens. NADEL -(2o) beschreibt die Weiterentwicklung des Gerätes zu einem Cytophotometric Data Conversion System (C.P.D.A.C.). Die Zellkerne werden Punkt für Punkt photometrisch gemessen und von einem Computer aufgezeichnet. Auf diese Weise läßt sich der DNA-Gehalt der einzelnen Kerne ermitteln und vergleichen. Die optischen Informationen sollen überraschend gut sein.(MENDELSOHN -(14)).
Das Bestreben geht immer mehr dahin, das "Wesen" der Zelle zu erfassen, das Zellmuster zu speichern, einem Computer Informationen zu überlassen, so daß er die Zelle als solche erkennt. McMASTER -(2o) formt die von einer photographierten und looofach vergrößerten Zelle erhaltene biologische Information in Zahlenreihen um. Unregelmäßige Kernlinie oder Chromatinverteilung heben sich je nach Stärke vom Hintergrund durch mehr oder weniger Lichtdurchlässigkeit ab. Diese und andere Faktoren nehmen in einer Linie von Zahlen gemäß ihrer Intensität einen bestimmten Platz ein. Genauso wird mit anderen Parametern verfahren. Durch Kombination dieser Eigenschaften, graduiert nach Wichtigkeit der Faktoren und der Stärke des Auftretens, erhofft man, die Zelle nach ihrer Normalität oder Malignität einstufen zu können. So entsteht eine "Bibliothek" von Zellen, die Anfang 1968 insgesamt loo Zellen von Ca in situ, invasivem Ca und Basalzellen von Menopauseabstrichen umfaßte. Die Größe dieser "Bibliothek" wird jedoch durch die Langsamkeit des "Scanning

Systems" und der Erfordernis,nur einzeln isolierte Zellen mit klarem Hintergrund zu verwerten, in Schranken gehalten.
Noch genauer als das menschliche Auge es vermag, soll TICAS (Taxonomic Intra-Cellular Analysis System) Zellen unterscheiden. (WIED et al.-(31)). Ein schnell durchmusterndes UMSP-I Mikrospektrophotometer, gekoppelt mit einem LINC-8 Computer, beschreibt durch Absorptionsmessungen intrazelluläre, dem Auge nicht zugängliche Daten. Man hofft damit, morphologisch nicht erfaßbare Vorstadien der Malignität erkennen zu können, 22o Zellen einer embryonalen Lunge wurden von 22o Epidermoidzellen Ca, die sich morphologisch sehr ähneln, mit nur 5% Fehlerbreite getrennt (BARTELS et al.-(1)). 3o normale Drüsenzellen, 3o Histiozyten und 3o maligne Tumorzellen konnten bis auf eine degenerierte Zelle eindeutig unterschieden werden (WIED et al -(32)). Vom Endometrium und der Endocervix abgesaugte Zellen diagnostizierte TICAS besser als 8 erfahrene Cytologen (WIED et al -(33), 34)). Trotz dieser Erfolge wird TICAS sich eher in einen "Berater" entwickeln, der morphologisch nicht trennbare Zellen unterscheidet, als in einen vollautomatischen Computer für Massenuntersuchungen; Letzteren wird es in absehbarer Zeit nicht geben.
Aus diesem Grund entwickelte die Firma Vickers den VCSA (Vickers Cytology Screening Apparatus)[1]. (BODDINGTON et al -(3); MEYER -(15);(16),(17); DIAMOND -(8)); SPRIGGS et al -(5)).
Der VCSA arbeitet wie der Cytoanalyzer nach dem Prinzip der Kerngröße und Kerndichtemessung. Die Mißerfolge des Cytoanalyzers gedachte man aus folgenden Gründen auszuschließen:

1) Der VCSA ist eine Vormusterungsmaschine, womit man mit einer gewissen Anzahl falsch positiver Präparate von vorneherein rechnen muß.
2) Die wichtigsten und endgültigen Entscheidungen trifft der erfahrene Zytologe. Ein irrtümlich an einer Stelle markiertes Präparat braucht nicht wie beim Cytoanalyzer ganz

---

1) Die Firma Vickers überließ uns den Apparat leihweise zur Prüfung.Hierfür sei an dieser Stelle herzlich gedankt!

durchmustert werden, sondern es genügt die Kontrolle der markierten Stelle.

3) Die Zellverteilung sei durch Aufbringung der Abstriche auf einen Plastikstreifen homogener, somit verbessert.

Die Zellverteilung beim VCSA betreffend, findet sich in der Literatur ein Verbesserungsvorschlag von MASIN -(13): Die in absoluten Methanol gegebenen Zellen sollen durch ein 53μ großes Sieb laufend auf den "Film" aufgetropft werden; durch Erwärmung verdampft der Alkohol - eine bessere Verteilung wäre die Folge.

3. Vorarbeiten zum Prinzip des VCSA

Bereits 1961 finden sich Untersuchungen von TOLLES et al -(27), (28), der Zellkerne nach Größe und Dichte (Extinctionsmessungen) auswertete. Beide Parameter seien brauchbar, vorausgesetzt, ein noch zu konstruierender Apparat würde Zellkerne nicht mit anderem heterogenen Material (z.B. Überlappungen) verwechseln. Die Möglichkeiten des Einstellens des Parameters werden diskutiert. Als trennende Größenordnung seien 10μ, 11μ oder 12μ zu erwägen, als trennende Kerndichte eine Extinction E_N=0,5, was aber je nach Färbeintensität verschieden ist. Tolles prägte in seiner Arbeit den Begriff der "Screening Performance", der ausdrückt, wie genau maligne und normale Zellen sortiert werden. Diagramme zeigen jeweils den Prozentsatz falsch positiver bzw. falsch negativer Präparate zueinander. Spatelabstriche seien Watte- oder Spülabstrichen vorzuziehen, denn hier erhielte man bei verdächtigen Abstrichen die größte Anzahl positiver Zellen. Durch den Überfluß an positiven Zellen könnten die Unterscheidungsparameter ziemlich streng eingestellt werden. Dann ergäben sich bei 0% falsch negativen 15% falsch positive Präparate. Das Verhältnis Zell- zu Kerndurchmesser könnte ebenfalls zur Auswertung herangezogen werden. Es sei jedoch überflüssig, da es sich mit den anderen Kriterien Größe und Dichte im Ergebnis deckt. Atrophische Abstriche hätten fast die gleiche Anzahl vergrößerter Kerne wie maligne Abstriche; letztere seien jedoch intensiver gefärbt. Es wird durch diese Messungen nachgewiesen, daß

ein kontinuierliches Spektrum in der Hyperchromasie-Zunahme von normaler zu maligner Zelle besteht.

DIAMOND -(7),(8) ermittelte in direktem Bezug auf den VCSA Kerngrößen (längster und kürzester Durchmesser) verschiedener Malignitätsstufen, Er ging hauptsächlich der Frage nach, ob in positiven Präparaten immer Kerne über 12μ vorhanden sind und kam zu folgendem Ergebnis:

1) Ca in situ, Dysplasie:
   an 3o ausgemessenen und 7o subjektiv mit Stichproben kontrollierten Präparaten fanden sich jeweils mindestens 12 Kerne über 12μ
2) bei mikroinvasivem Ca in 5 Präparaten jeweils mindestens 66 Kerne über 12μ
3) bei invasivem Cervix-Ca von 5 ausgemessenen Präparaten in 3 Präparaten je 5,6,7 Kerne, in 2 Präparaten 3o und 484 Kerne über 12μ
4) bei negativen Prämenopause-Präparaten: in 1o Präparaten nur 2 Kerne über 12μ
5) bei post-natalen Abstrichen von 1o Präparaten je 4 Kerne über 12μ
6) bei negativen Postmenopause-Abstrichen von 1o Präparaten im 4 Präparaten 3mal 1 Kern, 1mal 1o Kerne über 12μ.

In positiven Präparaten seien immer Kerne über 12μ vorhanden, in negativen Präparaten selten. Eine Überschlagsrechnung Diamonds ergibt, daß bei 3o negativen,nach dem Prinzip des VCSA ausgewerteten Präparaten lediglich 28 Gesichtsfelder im Vergleich zu 9ooo bei manueller Durchmusterung besehen werden müßten. Die Kerngröße sei ergo ein idealer Parameter für eine Vormusterungsmaschine.

MEYER -(18) bewies,in einer mathematischen Abhandlung über die "Scanning"-Theorie, daß jedes positive präparat erfaßt werden würde. SCHWARZ -(22) überprüfte parallel zu dieser Arbeit mit eigenen Kernmessungen, wie sich die Kerngrößen bei pathologischen Abstrichpräparaten verändern:

In ganz normalen Präparaten mit Leukos, Schleim und bakterieller Mischflora der Gruppe Pap I hat die Kernverteilungskurve ein

Maximum bei ca.9,5µund schneidet bei ungefähr 12µ die x-Achse Aber schon Histiozyten, endocervikale Zellen und bakterielle Cytolyse bedingen eine Rechtsverschiebung der Kernverteilungskurve bis ca.5µ. Durch degenerative Autolyse und durch Entzündung erfährt die Kurve noch einmal eine weitere Rechtsverschiebung bis auf 16µ. Bei histologisch nachgewiesener Dysplasie und Ca in situ liegt das Maximum der Kurve bei 11,8µ und endigt mit 1% bei 18,5µ. Beim Collum Ca verschiebt sich das Maximum noch etwas weiter nach rechts bis 12,5µ, und die größten Kerne finden sich bei 2oµ.
Aus diesen Zahlen bzw. Kurven könnte man - nach Meinung von Schwarz - die Schlußfolgerung ziehen, daß man auf Grund der Kerngröße keine endgültige Trennung zwischen normalen und pathologischen Abstrichpräparaten festsetzen kann.

In dieser nun folgenden Arbeit steht der VCSA zur Diskussion.

B. Vickers Cytology Screening Apparatus (V.C.S.A.)

Der VCSA besteht aus drei Teilen: der Auftragemaschine, der Färbemaschine und der Vormusterungsmaschine.

Das zu untersuchende Zellmaterial wird nicht wie üblich auf einen gläsernen Objektträger aufgetragen, sondern mittels der eigens dafür konstruierten Auftragemaschine auf einen "Film". Unter dem Begriff (Melinex-)"Film" verstehen wir ein fast glasklares, zugfestes und durchsichtiges Plastikband von 16 mm Breite, 0,075 mm Dicke und loo m Länge. Auf seiner Oberfläche befindet sich eine Necloidineschicht (= 1% ige Äther- und Alkohollösung), um dadurch eine bessere Adhäsion der Zellen zu erzielen. Ein Film faßt bis zu loo Präparate.

I. Die Fixierung

Die Abstriche können wie bisher mit Watteträger, Ayre Spatel, oder Cytopipette entnommen werden. Anstatt die Zellen auf einem Objektträger zu verstreichen, wird z.B. der Spatel abgebrochen und der mit den Zellen behaftete Teil in ein eigens dafür hergestelltes, unten konisch zulaufendes Röhrchen gegeben. In dem Röhrchen befindet sich Fixierflüssigkeit. Durch kräftiges Schütteln des Röhrchens werden die Zellen vom Spatel losgespült. Hierauf wird der Spatel entnommen. Den Zellen soll nun mindestens zwei Stunden lang Gelegenheit gegeben werden, sich in den Conus des Röhrchens zu setzen.
Die Fixierlösung wird hergestellt aus:

98 Teilen Alkohol (4o% ig)
1 Teil Polyglykol (Polyäthylenalkohol)
1 Teil Essigsäure (konz.)

Um Fremdpartikel (z.B.Schmutzteilchen) über 5μ Größe zurückzuhalten, filtert man die Lösung mit einem Millipore-Filter-System. Anschließend werden je lo ml Lösung in die Plastikröhrchen pipettiert. In diesen können die Zellen mehrere Monate unbeschädigt erhalten bleiben.

Die sonst übliche Fixierung besteht darin, daß der Objektträger mit dem aufgebrachten Abstrichmaterial unverzüglich in ein aus gleichen Teilen von 95 %igem Alkohol und Äther bestehendes Gemisch eingetaucht wird. Beim Vergleich der beiden Fixierlösungen fällt der unterschiedliche Prozentgehalt des Alkohols auf. Ob dies die Zellkerngröße verändert, wird in Abschnitt V diskutiert.

II. Die Auftragemaschine

Die "Graphing Machine" (Zellauftragemaschine, s.Abb.1) dient dazu, das Zellmaterial gleichmäßig auf einen durchsichtigen Film aufzutragen, sodaß es zur Färbung vorbereitet ist. Nachdem sich das Zellmaterial in dem Conus des Röhrchens gesetzt hat, wird der Überstand der Fixierlösung mit einer an der Maschine sich befindenden Pumpe bis zur gewünschten Höhe entfernt. Eine sog. "Cell-Writing-Pen" dient nun dazu, einerseits die Zellen aus dem Röhrchen heraus in einer Gummipipette hochzusaugen und sie andererseits auf den mit gleichmäßiger Geschwindigkeit vorüberziehenden Film wieder aufzustreichen, sodaß sich pro Präparat eine Zellstraße von 65 cm Länge und 1 mm Breite ergibt. Der mit Material beladene Film passiert nun noch einen Föhn, wodurch die Zellen hitzefixiert werden. Bevor dieser Ablauf jeweils in Gang gesetzt wird, klebt man eine selbsthaftende Nummer sowohl auf den Film als auch auf die Karteikarte der Patientin, um die Präparate identifizieren zu können.

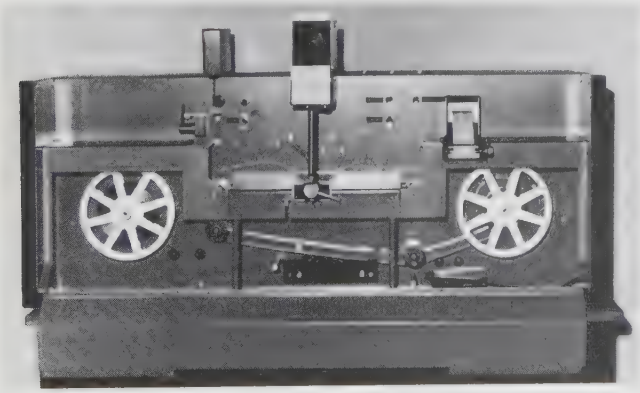


Abb. 1
Graphing Machine

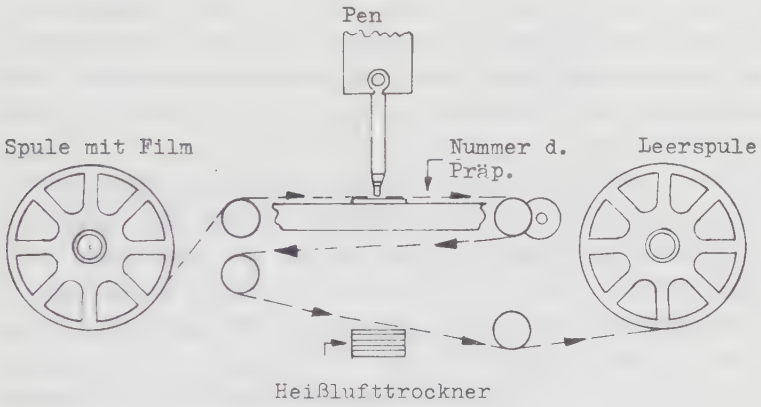
Die Graphing Machine (s.Skizze 1) arbeitet nicht vollautomatisch, sondern muß von der Hand bedient werden. Jedoch beschränken sich die Tätigkeiten auf Fließbandarbeiten und können von einer Hilfskraft verrichtet werden.

Beim Absaugen des Überstandes der Fixierlösung wird das Röhrchen lediglich unter den Sauger gestellt, dadurch ein Kontakt ausgelöst und die Pumpe in Gang gesetzt. Wie weit die Fixierlösung abgesaugt werden soll, richtet sich nach der Zellkonzentration in dem Röhrchen. Bei wenigen Zellen wirdmanuell noch etwas weiter abgesaugt. Die Suspension soll gut geschüttelt werden, um die Zellen gut zu verteilen. Der nächste Schritt des Auftrageprozesses betrifft die oben schon erwähnte "Cell-Writing-Pen" (s.Skizze la)

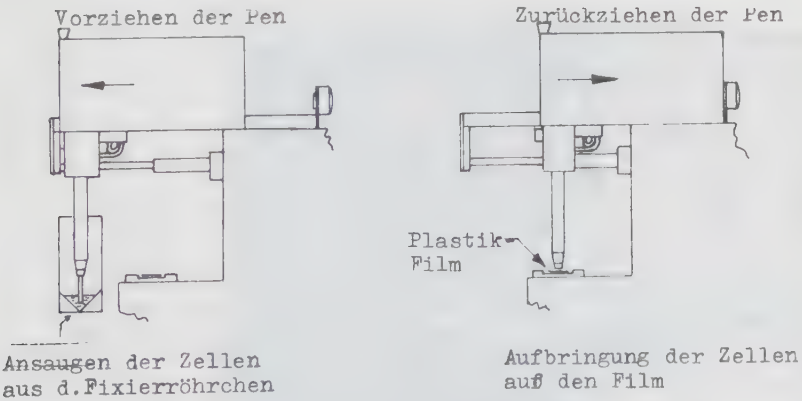
Die "Cell-Writing-Pen" ist in der Mitte der Maschine angebracht. Sie beherbergt eine geradlinige peristaltische Pumpe : Oben wird ein auf eine Spule aufgerolltes geschmeidiges Plastikschläuchlein , das als Saugpipette dient, eingelegt. Das Schläuchlein verläuft nach unten durch einen Metallstift, in dem sich zwei an einer Feder befestigte Rollen befinden. Das freie Ende des Schläuchleins schaut 2cm aus dem Stift heraus. Zieht man die "pen" nach vorne, so läßt sich die Gummipipette in das Zellkonzentrat tauchen, welches hochgesaugt wird, und zwar dadurch, daß die Rollen in dem Metallstift, auf das Gummischläuchlein drückend, aufwärts wandern. Schiebt man die "pen" nach hinten, so liegt die Plastikpipette in der Mitte des Films auf. Ein Knopfdruck setzt den Film in Bewegungund läßt die Rollen in dem Mittelstift entlang der Pipette wieder abwärts gleiten, um so das Zellmaterial auf den Film aufzupressen.

Nach dieser Prozedur zieht man den benützten Teil des Schläuchleins aus der "pen", schneidet ihn ab und wirft ihn weg. Für das nächste Präparat steht also eine neue "Pipette" zur Verfügung, um Vermischungen von Präparaten zu vermeiden. Die Konstruktion des Apparates verhütet Auftragefehler, indem sie die Inbetriebsetzung der einzelnen Teile blockiert, wenn diese nicht in der richtigen Reihenfolge vorgenommen wird. Mit etwas Übung lassen sich die verschiedenen Vorgänge gleichzeitig ausführen, sodaß

pro Präparat 9o sec Auftragezeit benötigt werden; allerdings muß vor Beginn der Arbeit die Maschine gereinigt werden, die die Pipette auf Spule gerollt und der Film eingelegt werden.



Skizze 1: Die Auftragemaschine



Skizze 1a: Cell-Writing Pen; Seitenansicht

(nach Vickers)

III. Die Färbemaschine (Staining Machine)

Die auf dem Film befindlichen Präparate werden mittels der Färbemaschine (s.Abb.2 und Skizze 2) gemäß der verkürzten Papanicolaou-Methode gefärbt, wobei der Film, auf Führungsrollen gewickelt, 2o Färbebecken kontinuierlich durchläuft.DePex, eine Canadabalsam ähnliche Lösung, verkörpert das Eindeckmittel, Scotch Tape, ein Tesafilm, das Deckglas.
Obwohl die Präparate auf den Film aufgebracht sind, liegen die Parallelen, verglichen mit der üblichen Färbung eines gläsernen Objektträgers, auf der Hand, was den Vorteil mit sich bringt, daß der Cytologe die Präparate ohne weitere Hilfsmittel - wie sie z.B.bei Fluoreszenz erforderlich wären - beurteilen kann.
Die Färbemaschine arbeitet automatisch, sofern man von der Inbetriebsetzung und den Reinigungsarbeiten absieht. Nach 12o min steht der Film mit 1oo Präparaten zur Vormusterung durch die "Viewing Machine" zur Verfügung.

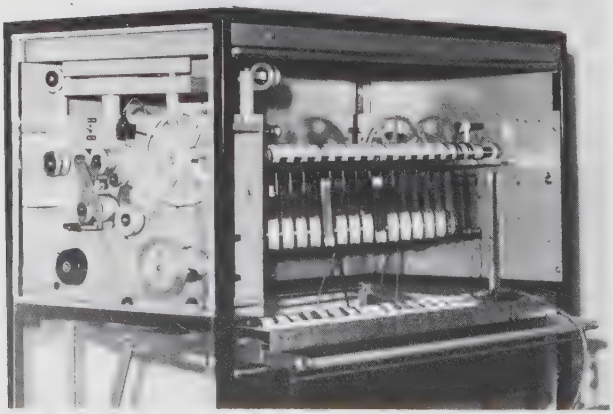


Abb. 2
Staining Machine

Im einzelnen sind folgende Details erwähnenswert:

1. Einlegen des Films

Der Film wird eingelegt und mit dem Rest eines schon über die Führungsrollen gespulten Leerstreifens verschweißt, sodaß der

Film nicht jedesmal von neuem eingefädelt werden muß. 1o m Leerstreifen des nächsten Films läßt man nach Beendigung der Färbung dafür wieder in der Maschine.

2.Färbebecken

An der Maschine sind 2o Färbebecken befestigt. Sie fassen je 5oo ml (Hämatoxylinbecken: 1ooo ml) der entsprechenden Lösung. Durch Hochschieben der Becken lassen sich die mit dem Film umwickelten Führungsrollen in die Färbebecken tauchen. Die Färbebecken bestehen in ihrer äußeren Umrandung aus Metall, werden jedoch mit Plastikbeuteln abgedichtet. Der Vorteil der Plastikbeutel besteht darin, daß sie bei Verschmutzung schnell ausgetauscht werden können - ihr Nachteil, daß sie sehr häufig undicht werden und ersetzt werden müssen. Ist die Maschine in Betrieb, so durchlaufen die Präparate kontinuierlich in folgender Reihenfolge die Flüssigkeiten:

Laufzeit i.Becken	Becken Nr.	Inhalt	Bemerkung
9o sec	1+2	Hämatoxylin HARRIS	1ooo ml Pap Lösung 1
2o sec	3	Wasser	Leitungswasser läuft
2o sec	4	Wasser	über einen Filter in die
2o sec	5	Wasser	Becken
2o sec	6	Alkohol 7o%ig	35o ml abs.vergällter Alk.+15o ml dest.Wasser
2o sec	7	Alkohol abs.	vergällt
2o sec	8	Alkohol abs.	
4o sec	9	Orange (OG 6)	5oo ml Pap.Lösung 2
2o sec	1o	Alkohol abs.	vergällt
2o sec	11	Alkohol abs.	
2o sec	12	Alkohol abs.	
4o sec	13	Polychrom Farbstoff EA 5o	5oo ml Pap.Lösung 3b
2o sec	14	Alkohol abs.	vergällt
2o sec	15	Alkohol abs.	vergällt
2o sec	16	Alkohol abs.	ggf.rein, sonst vergällt

Laufzeit i.Becken	Becken Nr.	Inhalt	Bemerkung
2o sec	17	Alkohol abs. +Xylol	25o ml abs.,ggf.reiner, sonst vergällter Alk. + 25o ml Xylol
2o sec	18	Xylol	
2o sec	19	Xylol	
2o sec	2o	Xylol	

Wie ersichtlich, handelt es sich um eine verkürzte Papanicolaou-Färbung. Sie wurde von Spriggs[1)] geringfügig modifiziert und soll in England häufig verwendet werden (persönliche Mitteilung von Vickers).

Die Farblösungen soll man vor jeder Färbung filtern. Das Hämatoxylinwird zusätzlich während des ganzen Färbevorgangs durch einen Filter gepumpt. Ebenfalls durch einen eingebauten Filter läuft dauernd frisches Leitungswasser in die Wasserbecken, da diese mit einem zu- und abführenden Schlauch mit der Wasserleitung verbunden sind.

Auch in Becken 16 verwendeten wir-außer bei Färbung von Film Nr.4-vergällten Alkohol, da reiner Alkohol in besonderem Maße die Verklebung der Plastikbehälter angriff: Leckt ein Behälter während des Färbevorgangs, so kann der Beutel nicht ausgewechselt werden, ohne viele Präparate zu verderben. Außerdem geht wertvoller Inhalt verloren. In Becken 17 verwendeten wir stets reinen Alkohol, da es sich hier um eine Mischung mit Xylol handelt.

Als besondere Abweichung von der 24- Stufen- Färbung nach Papanicolaou stellt sich dar:

— das Hämatoxylin wird nicht mit destilliertem Wasser abgespült
— das Differenzieren in 0,5%iger wäßriger Salzsäurelösung entfällt

---

1) Dr. A.I.Spriggs, Cytological Laboratory, The Churchill Hospital, Headington Oxford

— zwischen den Bädern mit Wasser und Alkohol wird nur ein Übergangsbad mit 7o %igem Alkohol benutzt.

Unter Umständen begünstigen diese Abweichungen die Bildung von Artefakten.

3. Die Einbettung

Aus dem letzten Becken, dem Xylolbecken kommend, werden die Präparate mit DePex eingedeckt. Das DePex ähnelt konsistenzmäßig dem Canadabalsam und sorgt für optische Homogenität. Man füllt das DePex in eine Spritze, die in einem Halter über dem Film befestigt wird. Die Bedeckung der Spritze wird einer Pumpe angeschlossen, welche Luftdruck auf das DePex ausübt. Der Luftdruck läßt sich durch eine Schraube regulieren und folglich durch ihn auch die Stärke des DePex-Stroms, der sich als Linie über die Zellstraße legt. Hierauf werden die eingebetteten Präparate zum Trocknen durch einen Föhn geführt.

4. "Deckglas"

Nach dem Trocknen gleitet der Film durch ein Rollsystem, in welches ebenfalls ein Band Tesafilm (Scotch Tape), die Klebeseite auf die Filmoberfläche gerichtet, mündet. Die Rollen pressen das 2 mm schmälere Scotch Tape dem Film fest auf. Schlieren im Klebeband werden durch das DePex ausgeglichen. Eine Leerspule nimmt den Film mit den gefärbten und eingebetteten Präparaten auf. Haben die Präparate die Färbung durchlaufen, so durchschneidet man den Film, wobei man wiederum 1o m Leerfilm in der Maschine beläßt, welcher mit dem nächsten Film verschweißt werden kann.

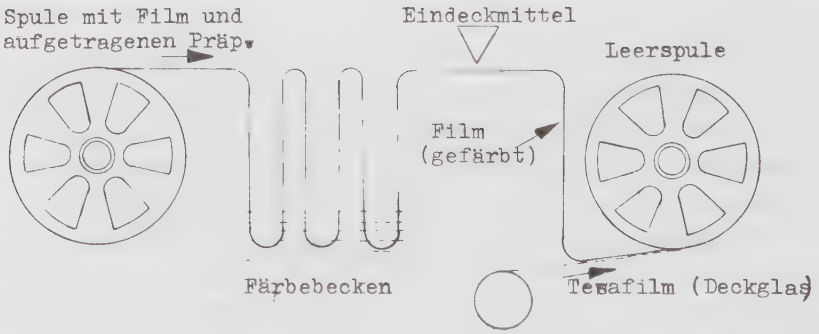
5. Bedienung der Maschine

Der Weg des ersten Präparates von der vollen zur leeren Spule durch Färbebecken hindurch dauert 2o min. Während dieser Zeit müssen der Verlauf beobachtet und die jeweiligen Schalter bedient werden. Danach kann die Maschine auf "run" geschaltet werden, was automatischen Färbeablauf bedeutet. Reißt die Schweißstelle, der Film oder der Tesafilm, so stoppt die Maschine von

selbst und eine Glocke zeigt an, daß die Färbung nicht ordnungsgemäß abläuft.

Nach jeder Färbung müssen die Führungsrollen gründlich gereinigt werden, die Flüssigkeiten der Becken 16, 17, 18, 19 jedesmal gewechselt werden, die restlichen Becken jeweils nach 2oo Präparaten.

Farbenfiltern und Reinigungsarbeiten nehmen durchschnittlich 1Std / loo Präp. in Anspruch.



Skizze 2: Färbemaschine (nach Vickers)

IV. Die Vormusterungsmaschine (Reading and Scanning Machine)

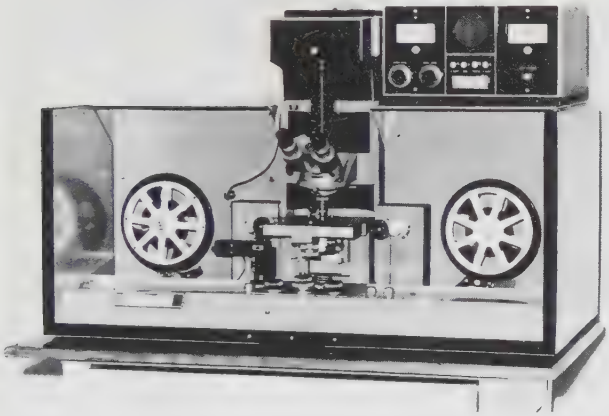
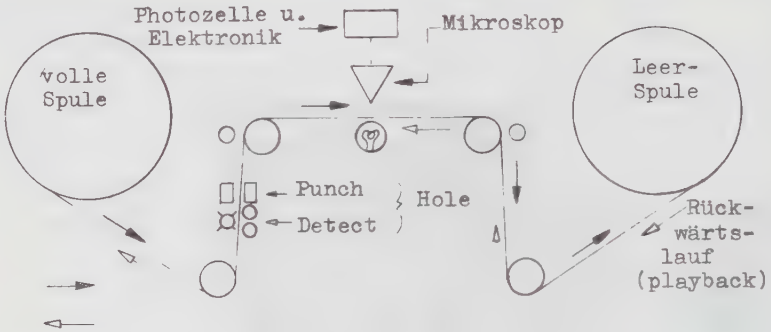
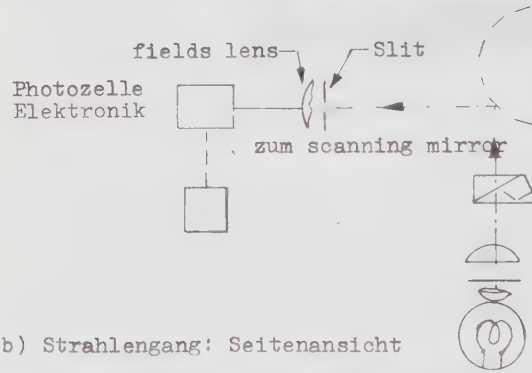


Abb.3
Reading and Scanning M. (Viewing Machine)

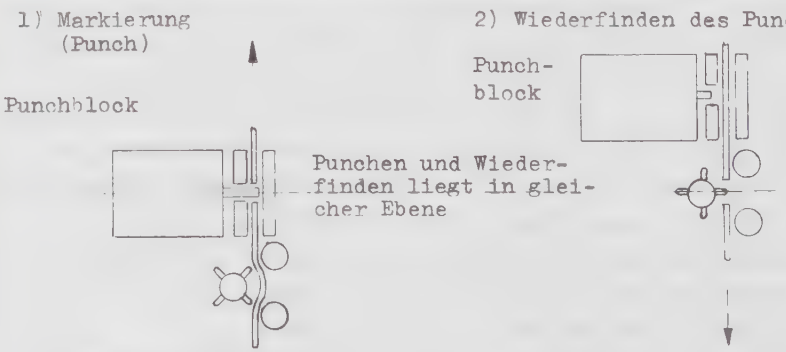
Die Vormusterungsmaschine (vgl.Abb.3,Skizze 3) kann man als den wichtigsten und entscheidendsten der 3 Apparate bezeichnen. Sie testet die Präparate, die auf den Melinex-Film aufgetragen wurden,optisch ab (= scanning) und markiert vermeintlich positive Stellen.
Der Film zieht mit einer Geschwindigkeit von 1 cm/sec unter dem Objektiv eines Mikroskops hinweg. Die Zellen werden mittels eines rotierenden Spiegels auf einer schmalen, runden Öffnung vor einer Photozelle abgebildet. Überschreitet ein Zellkern eine gewisse Dichte und liegt er größenmäßig auch noch zwischen 12μ und 18μ,so sorgt ein elektronischer Regelkreis dafür, daß seitlich ein kleines Loch in den Film gestanzt wird (=punching) Wurden alle Präparate automatisch durchmustert, so läßt sich der Film zurückspulen (=playback), wobei ihn jedes gestanzte Loch anhält und somit das markierte Gesichtsfeld dem Cytologen zur endgültigen Beurteilung vor Augen geführt wird.
Manuell kann das Präparat mit diesem Gerät ebenfalls durch- und nachgemustert werden.



a) Apparatur: Vorderansicht



b) Strahlengang: Seitenansicht



c) Punchmechanismus:

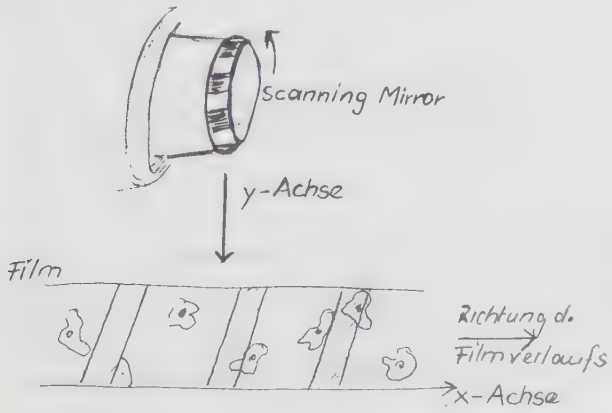
Skizze 3: Die Vormusterungsmaschine (nach Vickers)

1. Optik und Strahlengang (siehe Skizze 4, Seite 2o)

a) Als Lichtquelle dient eine 12 V, auf 4 Amp. eingestellte Halogenlampe, welche im rechten Winkel zum Objektiv unter dem Mikroskop in das Gerät eingebaut ist. Ein Spiegel lenkt den Lichtstrahl durch Kondensator, Präparat, Objektiv und Okular auf den "Scanning Mirror". Unter dem Begriff "Scanning Mirror" ist ein mit 14oo Umdrehungen/min rotierender Rundspiegel zu verstehen, der sich aus 18 Teilspiegeln zusammensetzt, welche in leichtem Winkel zueinander stehen, um eine Strahlenbrechung zu erreichen. Der Scanning Mirror dreht sich senkrecht zur Filmverlaufsrichtung, Er wirft die Gesichtsfelder des Mikroskops auf einen weißen Schirm mit einer runden Öffnung im Mittelpunkt (Durchmesser : 0,5 mm)

Der Strahlengang tritt durch diese Öffnung, wird mit einer Linse gesammelt und von dieser wiederum auf das sensible Feld einer Photozelle konzentriert. Hier beträgt die effektive Eintrittsöffnung in die Photozelle allerdings nur 4μ.

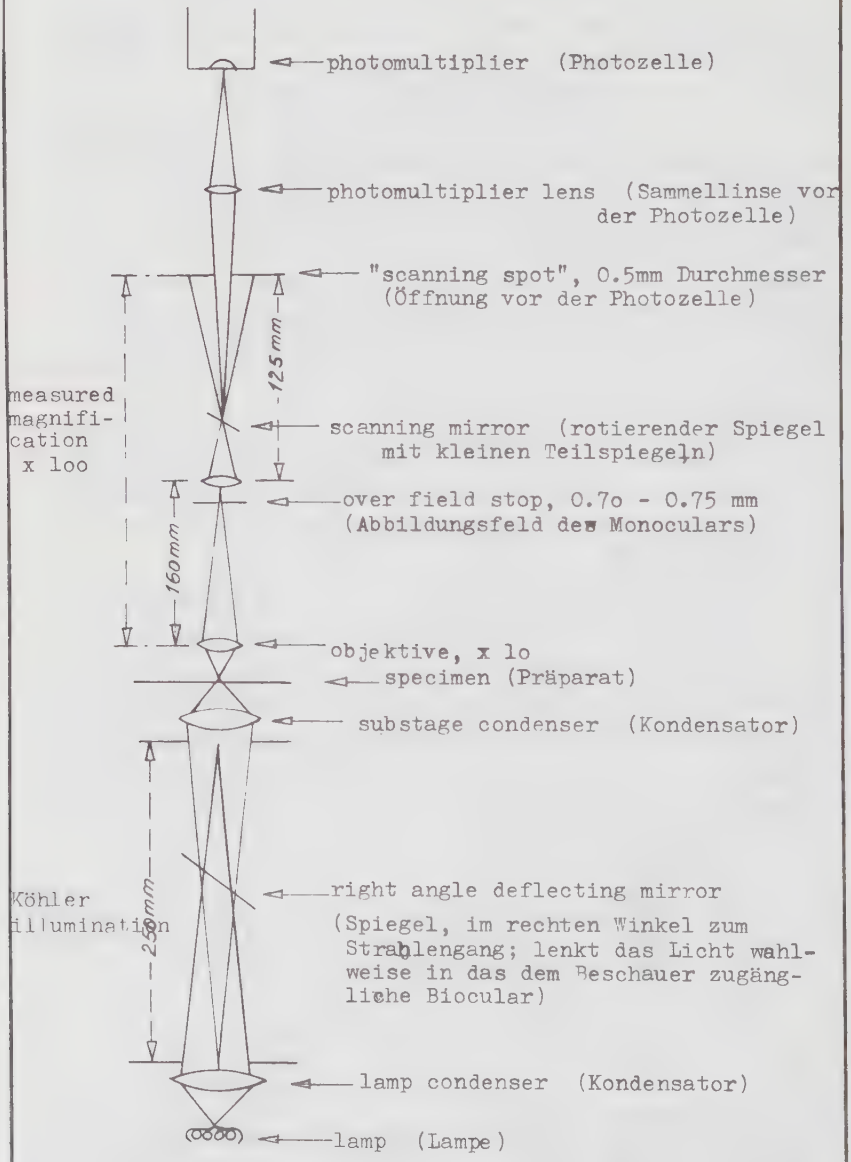
Während der Film von der vollen zur leeren Spule transportiert wird (diese Richtung sei die x-Achse), streift der Scanning Mirror senkrecht dazu das Präparat ab(sei die y-Achse) und wirft dadurch die Zellbilder in den Strahlengang zur Photozelle.Die daraus resultierende Richtungskomponente der Durchmusterung ergibt sich aus den beiden Geschwindigkeiten, nämlich der des Films (1cm/sec) und der des rotierenden Spiegels (29,5cm/sec).(Vgl.Skizze 3a).



Skizze 3a

Scanning Line (Durchmusterungskomponente)

Maßstabgetreu nach Vickers:



Skizze 4: Strahlengang von der Lichtquelle zur Photozelle

b) Das verwendete normale Standartmikroskop von Vickers Instruments weist folgende Optik auf:

Objektiv	Vergrößerung
x 1o	x 1oo (Monocular,zur Photozelle)
	x 115 (Biocular,zum Beschauer)
x 2o	x 201 (Biocular,zum Beschauer)
x 4o	x 435 (Biocular,zum Beschauer)

Zur automatischen Durchmusterung wählt man das 1ox Objektiv und läßt das Licht durch Monokular, welches unter dem oben beschriebenen Scanning Mirror mündet, einfallen. Ein Drehknopf ermöglicht es, bei Bedarf das Licht statt dessen in ein Biokular, das dem Cytologen zur Nachmusterung zugänglich ist, treten zu lassen.

2. "Kerngröße und Kerndichte"

Nun wird der Frage nachgegangen, wie der Apparat die Kriterien "Kerngröße" und "Kerndichte" verwertet.

a) "Kerndichte"
Das Abbild fällt, wie aus dem Strahlengang ersichtlich, im Endeffekt auf eine Photozelle, welche in der Lage ist, die ankommende Lichtintensität zu messen.
Als Ausdruck dieser Messung zeigt eine Skala den prozentualen Lichteinfall (light transmission) von 0% - 1oo% an.
0% light transmission wird "Dark Level" bezeichnet, also Eichebene für niedrigste relative Lichtdurchlässigkeit. Volle Lichtintensität der Lichtquelle seien 1oo% und als "Light Level" benannt. Während nun die oberste Helligkeitsgrenze durch die Lampenstärke und das Linsensystem bestimmt wird und in diesem Zusammenhang als nicht variierbar angesehen wird, muß der "Dark Level" vor jeder automatischen Durchmusterung festgelegt werden. Hierzu stehen 6 verschiedene Filter zur Auswahl mit jeweils unterschiedlicher Lichtdurchlässigkeit, und zwar:

	light transmission	Extinction (= log $\frac{1}{\text{transmission}}$)
Filter 1	41,5 %	0,38
Filter 2	3o,5 %	0,51
Filter 3	26 %	0,58
Filter 4	2o %	0,7o
Filter 5	14,5 %	0,85
Filter 6	0 %	—

Bei Eichung des dark level wählt man einen jener 6 Filter (bzw. 5 Filter, denn Filter 6 hat 0% light transmission), dreht ihn in den Strahlengang und stellt den dark level auf 0% light transmission (=Lichtdurchlässigkeit). Bei der Durchmusterung selbst wird allerdings kein Filter vor die Photozelle geschaltet. Bei jedem abgebildeten Zellkern registriert die Photozelle, inwieweit die Lichtdurchlässigkeit des Kerns der 0% light transmission und damit dem gewählten Filter gleichkommt.

TOLLES et al -(27),(28) untersuchten normale und suspekte Kerne daraufhin, ob sich durch deren verschiedenen Chromatingehalt ein davon abhängiger meßbarer Extinctionsunterschied ergibt und sie kamen zu dem Ergebnis, daß dies der Fall sei. Somit sollen die 0% light transmission gewissermaßen eine Trennlinie zwischen der Lichtdurchlässigkeit eines normochromatischen und eines hyperchromatischen Kernes bedeuten, denn ein normaler Kern wird bei richtiger Filterwahl - zwischen 1o und 1oo% Lichtdurchlässigkeit aufweisen, ein pathologischer unter 1o %.
Aber nicht nur Kerndichte, sondern auch Kerngröße sollen berücksichtigt werden, und dies geschieht wie folgt:

b) Kerngröße

Wird durch ein auf die Photozelle geworfenes dunkles Teilchen die light transmission auf 1o% der geeichten Skala herabgesetzt, so schaltet sich ein nach elektronischen Prinzipien arbeitender Zeitmesser ein. Das Teilchen "wandert": auf Grund der

Rotation des Scanning Mirror von oben nach unten über die nur 4 μ große Öffnung der Photozelle. Nach einer Verdunklungszeit, der eine Teilchengröße von 12 μ proportional ist, beginnt eine weitere "elektronische Uhr" ein 6 μ entsprechendes Zeitäquivalent abzugrenzen. Steigt die light transmission während dieser Zeit auf 90 %, so bedeutet das, daß das Teilchen in einer Grössenordnung von 12μ-18μ liegt und ein Transistor verursacht auf elektronischem Weg einen Punch, d.h. ein Loch wird seitlich in den Film gestanzt. Verdunkelt der Partikel die Photozelle kürzer, als es 12μ, oder länger, als es 18μ entsprechen würde, so erfolgt kein Punch. Photometrische Kerndichtemessung und elektronische Kerngrößenmessung sind somit kombiniert.
Zusätzlich wird nach einem ausgelösten Punch während einer Zeitspanne von 1 sec jede weitere Lochung blockiert. Dies bewirkt, daß im Höchstfall ein Punch dem nächsten nur im Abstand von 1 cm folgen kann. Andernfalls bestünde für eine große Anzahl von zwischen 12 μ und 18 μ liegenden hyperchromatischen Kernen die Möglichkeit, daß die Löcher zu einer gestanzten Linie ausarten würden und ein Wiederfinden des Gesichtsfeldes nicht mehr gegeben wäre.
Der Grund, warum die Werte 10 % bzw. 90 % light transmission und nicht 0 % bzw. 100 % die Kernmessung starten und stoppen liegt darin, daß es nicht möglich ist, die 4 μ große Öffnung der Photozelle unendlich klein zu gestalten. Somit erfolgt die Zu- und Abnahme der Lichtintensität zur Photozelle nicht scharf genug, sondern gewissermaßen graduiert; es entstehen "unscharfe Schattengrenzen".

Mechanik

Die Punches werden mechanisch von dem sog. Punchblock gestanzt, einem Metallblock seitlich des Mikroskops, den der Film durchläuft.
Nach der automatischen Durchmusterung zieht man den Punchblock ein paar cm bis zur Einrastung nach oben. Dadurch findet sich nun auf derselben Höhe, in der vorher das Loch geknipst wurde, ein Rädchen mit 4 Stiften. Der Film streift beim Rücktransport

einen der Stifte. Sobalb ein Loch ankommt, hakt der Stift ein und stoppt den Filmtransport. Da die Entfernung Objektiv und Punchauslösung einerseits mit der Entfernung Objektiv und Sift andrerseits identisch ist, erscheint auf diese Weise das Gesichtsfeld, das den Punch verursacht hatte, unter dem Miktoskop wieder. Durch Knopfdruck läßt sich der Film zum jeweils nächsten markierten Gesichtsfeld befördern. Diese Schaltung nennt man "playback".
Daneben besitzt das Gerät noch schnellen Vor- und Rücklauf, außerdem einen Drehknopf ("variable"), der die Präparate in jeder gewünschten Geschwindigkeit unter dem Mikroskop vorüberziehen läßt, so daß eine manuelle Durchmusterung des ganzen Präparates ebenfalls wie beim normalen Mikroskopieren ermöglicht wird.

Ausgewertete Materialmenge —— Scanning Theorie

1) Die Auftragefläche eines gläsernen Objektträgers beträgt (55 mm x 25 mm) = 1375 mm^2.
Das heißt jedoch nicht, daß jede Stelle grundsätzlich in gleicher Dichte von Zellmaterial bedeckt ist. Durch das Abrollen des Watteträgers werden sich an einigen Stellen die Zellen konzentrieren, an anderen Stellen wird sich weniger Zellmaterial befinden.
Ein Filmpräparat weist eine Fläche von (600 mm x 0,8 mm) = 480 mm^2 auf. Es besitzt also eine geringere Fläche als ein Objektträger. Dafür erwartet man eine gleichmäßigere und zufälligere Zellverteilung. Man fühlt sich zu dieser Annahme berechtigt, da die Zellen in Suspension gelöst sind:
Gesetzt den Fall, es finden sich neben einer großen Anzahl negativer Zellen einige wenige positive Zellen im Fixierröhrchen, so kann von der Wahrscheinlichkeit ausgegangen werden, daß durch Schütteln des Röhrchens die Zellen sich gleichmäßig verteilen. Dadurch werden auch in kleineren Einheiten die Charakteristika des Präparates repräsentiert. Diese Voraussetzung, sowie die Entwicklung der Scanning Theorie (s.u.) bilden einige

der im Vergleich zum 1965 konstruierten Cytoanalyzer(vgl.S.3) grundsätzlich neue Ideen.

2.Von der Photozelle wird nicht die gesamte Präparatlänge erfaßt:
a) Wie erwähnt,stehen die 18 Teilspiegel des Scanning Mirror im Winkel zueinander.Zwangsläufig entsteht dadurch ein kleiner,spiegelfreier Zwischenraum,der natürlich nicht in der Lage ist,Abbilder auf die Photozelle zu werfen.Da sich der Film trotzdem mit konstanter Geschwindigkeit weiterbewegt,entgeht dadurch ca.8% der Präparatlänge der Beurteilung.Das Linsensystem und die relativ für die Spiegelrotation zu schnelle Filmgeschwindigkeit schränken die abgebildete Präparatfläche weiter ein,d.h.der Film zieht in Richtung x-Achse;der Scanning Mirror bildet eine Quermusterung (=scan)ab,dann folgt ein toter Raum,hierauf wieder eine Abbildung usw.Da ein scan 5μbreit ist,der Scanning Mirror 27ooo scans/min liefert,der Film 6o cm/min zurücklegt,ergibt sich: 5μx27ooo = 135 mm.abgebildete Länge.Diese 135 mm lange,insgesamt abgebildete Strecke entspricht 22,5% der Präparatlänge.
b) Es wäre aber ein Irrtum,daraus zu folgern,daß entsprechend der Abbildung von 22,5% der Präparatlänge ein nur ebenso geringer Prozentsatz von Kernen gemessen wird.Die Wahrscheinlichkeit spricht dafür,gleichmäßige Zellverteilung vorausgesetzt,daß zumindest Teile von 12μ großen Zellkernen in großem Umfang in die 5 breiten scans fallen,was genügt,da sowieso nur eine Kerndurchmesserrichtung registriert wird.

3, Durch die 1cm lange Sperre nach einer Lochung werden in diesem Breich liegende Gesichtsfelder mit etwaigen suspekten Zellen nicht markiert.

4. Ein Kern wird nur in einer Richtung gemessen.Es wird also,bei einem elliptisch gebauten Kern,nicht immer der längste Durchmesser erfaßt.

5. Statistische Berechnungen hätten unter Berücksichtigung all dieser Fakten ergeben,daß genügend entscheidende Kerne erfaßt würden.Es ist nicht Aufgabe dieser Arbeit,die mathematischen und theoretischen Grundlagen der Scanning Theorie zu überprüfen.Es sei deshalb verwiesen auf E.W.MEYER -(18).

C Versuchsergebnisse mit dem V C S A

I. Material und Arbeitsmethode

Wir ließen 1473 Präparate von der Vormusterungsmaschine automatisch durchmustern. Von 1415 dieser Präparate liegt ein Paralellabstrich auf Objektträger vor, der routinemäßig durch das cytologische Labor diagnostiziert wurde und uns als Kontrolle dient. Bei der Auswertung wurden nur die 1415 Fälle mit vorhandenem Parallelabstrich berücksichtigt. Lediglich in Tabelle 2 fanden auch 58 Präparate ohne doppelten Abstrich Eingang, da es sich um Aussagen handelt, die einen Parallelabstrich nicht erfordern.

Die größte Anzahl der Abstriche (1235) wurde in der Ambulanz der 1.Frauenklinik München gewonnen.

Um wesentlich mehr positive Präparate zu erhalten als unter 1473 Abstrichen in einer Ambulanz anfallen, wichen wir auf klinische, aber noch unbehandelte Fälle aus, die wir auf der Strahlen- und operativen Abteilung des Hauses vorfanden. 71 der insgesamt 187 positiven Präparate zeigten, zumeist aus Materialmangel, keine verdächtigen Zellen auf dem Film, so daß für die Untersuchung, inwieweit auf dem Film sich befindende positive Kerne (Pap III - V) von der Maschine herausgefunden werden, noch 116 Präparate zur Verfügung standen.

Wir variierten die Abstrichmethode, indem wir teils mit Spatel, teils mit Watte und Cytopipette Material entnahmen.

Vickers empfahl Spatelabstriche; jedoch zeigten diese häufig Mangel an Zellreichtum. Mit Watteträgern ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Die Watteträger wurden von der Fixierlösung nicht angegriffen und wiesen somit keinen höheren Verschmutzungsgrad auf. Spülabstriche stellten am meisten zufrieden. Sie boten auffallend mehr und besser verteiltes Material auf dem Film. Wir hatten dabei die Cytopipette mit NaCl- Lösung gefüllt, diese in die Vagina eingespritzt und wieder abgesaugt und den Inhalt der Pipette in das Röhrchen mit Fixierflüssigkeit gegeben. wir

zentrifugierten auch 9 Spatel-, 15 Watte- und 41 Spülabstriche. Es ergab sich kein Unterschied zu den nicht zentrifugierten Präparaten.

Über Aufschlüsselung nach Abstrichentnahme, Präparatherkunft und Beurteilung des Parallelabstriches durch das cytologische Labor (Pap-Gruppen) geben Tabelle 1 und 1 a Auskunft.

Das Material der 147? Fälle wurde auf 2o Filme aufgetragen. Die "Viewing Machine" markierte bei der Vormusterung 20302 ihr verdächtig erscheinende Gesichtsfelder, Jedes gekennzeichnete Gesichtsfeld wurde sorgsam nachgemustert und wir überlegten, welche Ursache den Punch ausgelöst haben könnte. In Tabelle 2 sind die häufigsten Punchursachen aufgeführt. Die positiven Präparate wurden noch besonders kontrolliert, doch hierauf wird in Abschnitt III eingegangen.

Beurteilung durch das cytologische Labor

Gesamtmaterial: 1415 Präparate, davon:

	Spatel: 1003			Spatel, zentr.: 9			Watte: 264		
	amb. 969	Op.Kon 17	Str. 17	amb. 7	Op,K,S —	Str. 2	amb. 198	O,K,S 6	Str. 6o
Pap I	45o	3	—	1	—	—	1oo	—	1
Pap II	489	7	3	6	—	—	87	1	1
Pap III	5	1	3	—	—	—	2	—	12
Pap III D	8	—	—	—	—	—	1	—	—
Pap IV	3	—	1	—	—	—	4	—	5
Pap IV a	4	1	—	—	—	—	1	—	—
Pap V	6	3	9	—	—	2	3	—	35
Wiederholung	3	1	—	—	—	—	—	1	2
nicht beurteilbar	1	—	—	—	—	—	—	—	3
keine atyp. Zellen	—	1	—	—	—	—	—	1	1
kein Zellmaterial	—	—	1	—	—	—	—	—	—

Zusammenstellung des gesamten Materials, von dem Parallelabstriche vorhanden sind, nach:

1. Methode der Abstrichentnahme (Spatel, Watteträger, Spülabstriche, --- zentrifugiert)
2. Herkunft des Materials: Ambulanz (=amb)
   Operative, Konservative, Septische Station (=Op.Kons.Sept.)
3. Beurteilung des Parallelabstriches durch das cytolog. Labor

	Watte, zentr.: 15			Spülabstrich: 83			Spülabstrich, zentrifugiert: 41		
	amb.	O,K,S	Str.	amb.	O,K,S	Str.	amb.	O,K,S	Str.
	7	–	8	37	1	45	17	–	24
Pap I	4	–	–	18	–	3	8	–	–
Pap II	3	–	2	18	–	1	8	–	2
Pap III	–	–	1	–	–	11	–	–	3
Pap III D	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pap IV	–	–	2	–	–	4	1	–	4
Pap IV a	–	–	1	1	–	–	–	–	–
Pap V	–	–	3	–	–	23	–	–	12
Wiederholung	–	–	–	–	–	1	–	–	2
nicht beurteilbar	–	–	–	–	–	1	–	–	1
keine atyp. Zellen	–	–	–	–	–	1	–	–	–
kein Zellmaterial	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Tabelle 1

Einteilung des Abstrichmaterials

Gesamtzahl der Präparate: 1473
Präparate ohne Parallelabstrich: 58

Bei der Auswertung wurden nur Präp.mit Parallelabstrich verwendet.

Gesamtzahl der Präparate mit Parallelabstrich: 1415

I) Abstrichentnahme

Spatel	1003	Watte	264	Spülabstrich	83
Spatel,zentr.	9	Watte,zentr.	15	Spülabstr,zentr,	41

II) Herkunft der Präparate

amb.	Op.Sept.Kons.	Str.-Op.
1235	24	156

III) Einteilung nach der Beurteilung aus dem cytologischen Labor

Pap I	Pap II	Pap III	Pap III D	Pap IV	Pap IVa
588	628	37	1o	23	9

Pap V	nicht beurteilbar:	Wiederholung	keine atyp. Zellen	kein Zellmaterial
99	6	1o	4	1

Tabelle 1 a

Wir zentrifugierten auch einige (zus. 65 Präparate) Spatel-, Watte- und Spülabstriche, was ergebnislos blieb.

II. Ursachen der Punchauslösung

1. Erläuterung

Bei der Suche nach den Ursachen der Punchauslösung findet sich zunächst die Schwierigkeit, daß die Ursache selbst im Gesichtsfeld nicht gekennzeichnet ist. Lediglich das vermeintlich positive Feld läßt sich vor Augen führen. Man mußte nun Teilchen im Gesichtsfeld ausfindig machen, welche die erforderliche Größe und Dichte aufwiesen. Hierzu ist notwendig zu wissen, daß das Präparat vom Gerät in einer Ebene, und zwar in schräger Richtung durchmustert wird. Also auch ein Teilchen, größer als 18μ, vermag dann eine Markierung auszulösen, wenn es eine Form aufweist, welche an einer Stelle nur eine Breite von 12μ-18μ zeigt und hier auf der "Scanning Line" liegt. Die "Scanning Line" ist die Durchmusterungslinie, die Resultante aus Filmverlaufs- und Spiegelrotstionsgeschwindigkeit.

In Tabelle 2 wurden links die auslösenden Ursachen der Markierungen angeführt. Die Längsspalten geben die 2o bearbeiteten Filme wieder. Zu den einzelnen Ursachen muß folgendes erläutert werden:

(Die Nummern beziehen sich auf die Durchnummerierung der Punchursachen in der Tabelle)

ad 1) Unter "Schmutzteilchen" sind Staub- und Dreckpartikel zu verstehen, die entweder bei Abstrichentnahme oder bei der Materialaufbringung auf den Film in das Präparat gelangten.

ad 2) "Artefakte" hingegen beziehen sich auf die Färbung, wenn z.B. Hämatoxylinkristalle sich im Präparat festsetzen oder eine Zelle durch ungenügende Entwässerung oder zu starke Färbung bis zur Unkenntlichkeit entstellt wurde.

ad 8) "Verdächtige (positive) Kerne" bedeutet, daß in dem betreffenden Gesichtsfeld Zellen liegen, die eine Einstufung des Präparates in die Pap-Gruppen III - V erfordern. Jedes Gesichtsfeld, das solche Kerne enthält, wurde in dieser Spalte 8 berücksichtigt, selbst wenn noch andere, zur Punchauslösung führende Faktoren in ihm liegen.

ad 12) Da sich häufig mehrere denkbare Ursachen der Punchauslösung gleichteitig in einem Gesichtsfeld fanden, schufen wir den Begriff "Kombination". Er umfaßt zwei oder mehrere der Faktoren 4 mit 9 miteinander kombiniert, jedoch ohne Schmutzpartikel, Artefakte, Überlagerungen von Zellen und verdächtigen Kernen.

ad 12a, 12b, 12c)
Die häufigsten Kombinationsmöglichkeiten, nämlich mit Schmutzteilchen (12a), Artefakt (12b) und Überlagerung (12c) wurden nicht in Spalte 12, sondern eigens aufgeführt. Positive Zellen befinden sich nicht darunter.

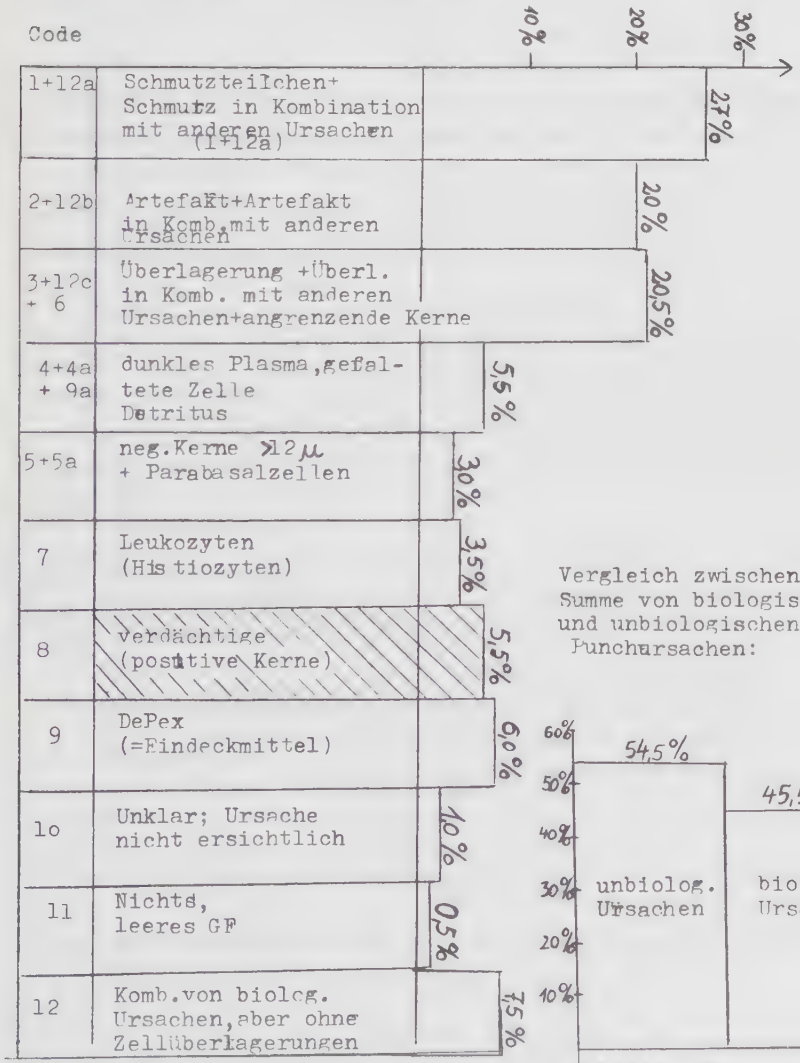
Code	Auslösende Ursachen der Punches	Band : I		II		III	
		Filter : 5		5		5	
		Anzahl der Präparate 44		29		70	
		Punches	%	Punches	%	Punches	%
1	Schmutzteilchen	82	12,0	56	22,5	290	20,5
2	Artefakt(Alkohol,Färb.)	156	23,0	93	37,5	339	24,0
3	sich überlappende Zellen	73	10,5	13	5,0	106	7,5
4	dunkles,dichtes Plasma	55	8,0	4	1,5	24	1,5
4a	gefaltete Zellen						
5	negative Kerne >12 µ	48	7,0	8	3,0	118	
5a	Parabasalzellen (Endocervikalzellen)	26	4,0			22	1,5
6	angrenzende Kerne zusammen >12 µ	4	0,6	2	1,0	14	1,0
7	Leukozyten(Histiozyten)	57	8,5	16	6,5	49	3,5
8	verdächtige Kerne (Pap. III – V)			2	1,0	3	0,2
9	De Pex (=Eindeckmittel), Detritus	15	2,0	3	1,0	20	1,5
10	Unklar			2	1,0	2	0,1
11	Nichts	1	0,2	1	0,5	19	1,4
12	Kombination der angeführten Punkte 4–9	23	3,5	7	3,0	38	2,5
12a	Schmutzteilchen + angeführte Punkte 2–9	8	1,2	11	4,5	22	1,5
12b	Artefakt + angeführte Punkte 3–9	78	11,5	30	12,0	148	10,5
12c	Überlagerung + angeführte Punkte 4–9	54	8,0			207	14,5
	Summe :	680	100%	248	100%	1421	100%
	Punches pro Präp.:	≈ 15		≈ 8		≈20	

V	XVI		XVII		XVIII		XIX		XX		Gesamtsumme Band I–XX		Code
4	4		4		4		4		3				
0	88		97		91		100		87		1473		
%	Punches	%	Punches	%	Punches	%	Punches	%	Punches	%	Punches	%	
,0	343	15,0	174	10,5	255	17,5	250	11,5	114	12,0	3776	18,5	1
,5	154	7,0	174	10,5	151	10,5	156	7,5	56	6,0	1649	8,0	2
,5	87	4,0	73	5,0	42	3,0	27	1,0	11	1,0	1160	5,5	3
,0	54	2,5	4	0,5	8	0,5	10	0,5	5	0,5	734	3,5	4
,5	38	1,5	23	1,5	10	0,5	8	0,5	4	0,5	294	1,5	4a
,5	49	2,0	34	2,0	30	2,0	22	1,0	7	0,5	432	2,0	5
,0	6	0,5	46	3,0	10	0,5	12	0,5	23	2,5	285	1,0	5a
	1	0,5	1	0,5	2	0,5	0		0		44	0,5	6
,5	109	5,0	41	2,5	47	3,5	78	3,5	31	3,0	659	3,5	7
,5	132	6,0	116	7,0	204	14,0	196	9,0	315	32,0	1135	5,5	8
,0	201	9,0	127	7,5	87	6,0	262	12,5	65	7,0	1252	6,0	9
	16	0,5	11	0,5	6	0,5	38	1,5	16	1,5	87	0,5	9a
	13	0,5	14	1,0	3	0,5	0		1	0,5	133	1,0	10
	11	0,5	17	1,0	6	0,5	3	0,5	0		106	0,5	11
,0	218	9,5	112	7,0	83	5,5	2	5,0	25	2,5	1411	7,5	12
,0	240	10,5	124	7,5	139	8,5	208	9,5	72	7,5	1749	8,5	12a
,0	242	10,5	250	15,5	198	13,5	505	23,5	82	8,5	2407	12,0	12b
,0	341	15,0	273	17,0	183	12,5	264	12,5	138	14,5	2989	14,5	12c
%%	2255	100%	1620	100%	1464	100%	2141	100%	965	100%	20302	100%	
	≈27,5		≈16,5		≈16		≈24		≈11		≈13,5		

Graphische Darstellung der Häufigkeit von Ursachen, welche Punches auslösen

147² Präparate —— 2o3o2 Punches

Wieviele Prozent der 20302 nachgesehenen Punches nehmen untenstehende Ursachen ein ?



Vergleich zwischen der Summe von biologischen und unbiologischen Punchursachen:

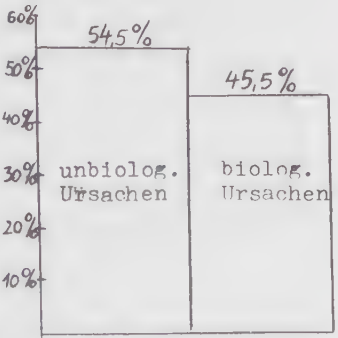


Tabelle 2a

2. Ergebnis

Wie aus Tabelle 2 und 2a ersichtlich, lagen nur in 5,5 % der markierten Gesichtsfelder wirklich verdächtige Kerne vor. Mag auch das Anführen der Häufigkeit der einzelnen denkbaren Ursachen einer gewissen Subjektivität nicht entbehren und die angeführten Prozentzahlen Schwankungen unterliegen, so lassen sich trotzdem folgende objektive Aussagen eindeutig treffen:

1. 94,5% (=19167) Punches erwiesen sich als falsch positiv.
2. Das Gerät unterscheidet nicht, ob es sich bei dem Teilchen, das eine gewisse Dichte und Größe zwischen 12 μ und 18 μ aufweist, ob es sich um einen Zellkern oder um ein anderes Partikel handelt. Die Skala der Ursachen zieht vielmehr quer durch eine ganze Reihe biologischer und unbiologischer Faktoren.
3. Von den biologischen Ursachen (zus. 45,5, %) stehen Überlagerungen von Zellen (20,5%) an erster Stelle. Durch die Überlappungen erreichen die Zellen eine größere Dichte, einen schärferen Rand, häufig aneinander grenzende Kerne und bringen so die erforderliche Dichte und Größe auf. Auch Leukozyten-Zusammenballungen (3,5%) führen zu Markierungen, eigentlich häufiger, als es in der Tabelle zum Ausdruck kommt, da sie meistens in die Spalte "Kombination" fielen.
4. Hauptursachen unbiologischer Art (zus.54,5%) waren Schmutzteilchen(27%), Färbeartefakte (2o%), oft auch Bläschen und Randlinie des Eindeckmittels (6%).
5. Durch die Vielfalt der möglichen Punchursachen ergab es sich, daß fast jedes Präparat an irgendeiner Stelle markiert wird (s.Abschnitt III,"Punchzahl").

III. Punchzahl

Nachdem im vorausgegangenen Abschnitt die Ursachen, die zur Auslösung der Markierungen führten, aufgezeigt wurden, sollen an dieser Stelle Fragen, die die Anzahl der Markierungen betreffen, behandelt werden:
Wieviele Präparate werden markiert?
Wovon hängt die Zahl der Punches pro Präparat ab?
Durch welche Faktoren wird sie beeinflußt?
Außerdem erscheint es sinnvoll, an dieser Stelle auf die Methoden der Abstrichentnahme einzugehen.

1. Falsch positive - falsch negative Präparate

Nur ein sehr geringer Teil von negativen Präparaten (1%) wurde bei Benützung des empfohlenen Filters 4 überhaupt nicht markiert. Die Vormusterungsmaschine sortiert also nicht etwa nagative Präparate vollkommen aus, sondern beschränkt lediglich das Durchmustern der Präparate auf - im Gesamtdurchschnitt sämtlicher 1473 Präparate gesehen - ca. 13 Gesichtsfelder pro Präparat, was aber von Band zu Band großen Schwankungen unterliegt.

Filter	neg.Präparate = loo%	davon nicht markierte neg.Präp.		"falsch pos." Präp. (%)
6	106	4o	37,7%	62,3%
5	254	69	27,1%	72,9%
4	887	9	1%	99 %
3	4o	4	lo %	9o %
Summe	1287	122	9,5%	90,5%

Tabelle 3

Prozentsatz negativer, nicht markierter Präparate bei Benützung unterschiedlicher Filter.

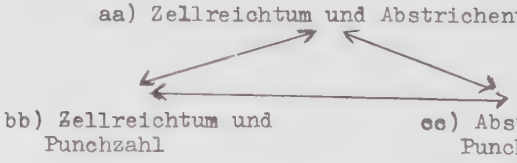
Ginge man von der Voraussetzung aus, die Maschine dürfte negative Präparate gar nicht kennzeichnen, müßte diese aussortieren und ausschließlich positive Präparate markieren, so erhielte man bei dem zu wählenden Filter 4 einen Prozentsatz von 99% falsch positiven Präparaten(s.Tabelle 3). Dieser Prozentsatz variiert ± ca.lo% mit der Filterwahl. Warum Filter 4 als der geeignete Filter erscheint, wird in Abschnitt IV,6 (S.7o) ausführlich diskutiert.

Dem Prozentsatz von 99% falsch positiven Präparaten gegenüberzustellen sind positive und suspekte Präparate der Pap.-Gruppen III - V, die verdächtiges Material auf dem Film aufwiesen, aber entweder gar nicht (1 Präp.) oder an falschen Stellen markiert wurden; letzteres ist bei 33 von 116 positiven Präparaten der Fall, was zusammen einen Prozentsatz von 28 % falsch negativen Präparaten ergibt.

2. Wovon hängt die Zahl der Punches pro Präparat ab?

a) Einfluß von Materialreichtum und Abstrichentnahme auf die Zahl der Punches

Es fiel auf, daß die meist äußerst zellreichen Spülabstriche (vgl.Abschnitt I,2) auch am häufigsten markiert wurden, was die Vermutung nahelegte, daß eine Korrelation besteht zwischen



Damit wir den Zellreichtum veranschaulichen können, teilten wir die Präparate in 5 Gruppen, und zwar:

(1) sehr zellreich : jedes Gesichtsfeld ist in seiner ganzen Fläche voll von Zellen ausgefüllt

(2) zellreich : die Zellen liegen nicht ganz so dicht wie bei (1)

(3) mittel : das Präparat zeigt insgesamt ausreichend Zellen, und die Qualität des Präparates

ist noch brauchbar

(4) zellarm: wenige Zellen pro Gesichtsfeld

(5) fast kein Mat.: entweder überhaupt keine Zellen oder nur vereinzelt Zellgruppen in einigen Gesichtsfeldern.

Die Trennlinie zwischen den einzelnen 5 Gruppen des Zellreichtums wurde empirisch getroffen. Eine mögliche Fehlerbreite erstreckt sich höchstens im Rahmen einer Gruppe höher bzw. tiefer. So darf als ausgeschlossen gelten, daß man z.B. ein sog."zellreiches" Präparat zwei Gruppen tiefer in "zellarm" einordnen könnte.

zu aa) Zusammenhang: Abstrichentnahme - Zellreichtum

	Spatel		Spatel zentr.		Watte		Watte zentr.		Spülabstriche		Spülabstr.zentr.	
sehr zellreich	88	18%	–	–	26	13%	1	11%	24	66%	14	74%
zellreich	93	19%	2	29%	38	19%	1	11%	4	14%	2	11%
mittel	12o	24%	–	–	35	17%	2	22%	5	14%	1	5%
zellarm	86	18%	1	14%	35	17%	4	45%	2	6%	1	5%
fast kein Mat.	107	22%	4	57%	65	33%	1	11%	–	–	1	5%
Summe:	494	1oo%	7	1oo%	199	1oo%	9	1oo%	36	1oo%	19	1oo%

Tabelle 4

Einfluß der Abstrichentnahme auf den Zellreichtum bei den 764 neg.Präparaten (Pap I und II) der Bänder 1o - 2o

	Spatel		Spatel zentr,		Watte		Watte zentr.		Spülab-striche		Spülab. zentr.	
sehr zellreich	1	2%	–	–	5	8%	–	–	26	57%	14	64%
zellreich	8	17%	–	–	2	3%	–	–	7	15%	4	18%
mittel	12	26%	–	–	4	6%	2	33%	7	15%	–	–
zellarm	14	29%	2	100%	11	17%	3	50%	2	4%	2	9%
fast kein Material	12	26%	–	–	42	66%	1	17%	4	9%	2	9%
Summe:	47	100%	2	100%	64	100%	6	100%	46	100%	22	100%

Tabelle 4a

Abstrichentnahme und Zellreichtum der 187 pos.Präparate.

Es wird die schon vorweggenommene Feststellung bestätigt, daß durch die Spülabstrichmethode zellreichere Präparate auf Band gewonnen werden als bei Spatel- und Watteträgerabstrichen. Verstreicht man hingegen die Watteabstriche auf Objektträger, wie es die übliche Methode ist, und wie es bei unseren Parallelabstrichen ausgeführt wurde, so besteht fast nie ein Mangel an Zellreichtum. Allerdings wurde von Präparaten aus der Ambulanz der Routineabstrich für das cytologische Labor vor dem Abstrich für den VCSA abgenommen. Man könnte darin den Grund für den geringeren Zellreichtum auf Film sehen. Obwohl dies natürlich auch eine gewisse Rolle spielt, erscheint aber dieses Argument nicht sehr stichhaltig, da die Spülabstriche aus der Ambulanz ebenfalls an zweiter Stelle entnommen wurden und trotzdem äußerst zellreich sind. Die Hauptursache muß also in dem Auftragesystem des VCSA gesucht werden. Hierfür gibt es zwei Erklärungen:

1. Die Zellen müssen sich bei Spülabstrichen in der Fixierflüssigkeit verteilen, während sie sonst trotz Schütteln am Spatel- oder Wätteträger haften bleiben können.
2. Die Zellen werden von der Auftragemaschine zunächst in einer dünnen Gummipipette hochgesogen und dann auf den Film aufge-

tragen (s.Kap.B,II: die Auftragemaschine). Größere Teilchen wie z.B. Gewebeteilchen, Blut, Zellverklumpungen, können diese Pipette verstopfen und dadurch genügendes Hochziehen von Zellen verhindern.

Zentrifugieren der Röhrchen, in denen sich die Zellsedimentation mit der Fixierlösung befindet, veränderte bei keiner der Abstricharten den Zellreichtum auf dem Film (s.ebenfalls Tabelle 4 und 4a.)

"Zellarme" Präparate und solche mit "fast keinen Zellen" sind als technisch unzureichend anzusehen.

Wir erhielten, zählt man zentrifugierte und nicht zentrifugierte Präparate zusammen, bei:
negativen (positiven) Spatel - 39,4% (58,3%),
negativen (positiven) Watte - 5o,4% (81,4%) und bei
negativen (positiven) Spülabstrichen 5,2% (14,6%) technisch unzureichende Präparate.

zu bb) Zusammenhang: Zellreichtum - Punchzahl

Um festzustellen, ob zellreiche Präparate wirklich häufiger als zellarme Präparate markiert werden, untersuchten wir 54 negative und 37 positive Spülabstriche (mit positivem Zellmaterial auf Film), außerdem 174 negative und 23 positive Watteträgerabstriche der Bänder lo - 19, welche alle mit Filter 4 durchgemustert worden waren. Es wurde von jedem Band die durchschnittliche Zahl der Punches pro Präparat ermittelt, und errechnet, inwieweit die einzelnen Abstriche über bzw.unter dem Punchdurchschnitt ihres Bandes liegen. Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 5a - 5d.

Es läßt sich festhalten, daß die Punchzahl umso mehr den Durchschnitt übersteigt, je zellreicher die Präparate sind, sowohl bei den negativen als auch bei den positiven Präparaten.

Außerdem ergibt sich noch der Hinweis, daß innerhalb der Gruppe des gleichen Zellreichtums positive Präparate mehr gekennzeichnet werden als negative. So liegen z.B. von den "sehr

zellreichen" positiven Spülabstrichen 1o% der Präparate mehr über 1/3 über dem Banddurchschnitt als von den "sehr zellreichen" negativen Spülabstrichen. Ähnlich verhält es sich in den anderen "Gruppen des Zellreichtums" und bei den Watteträgern. Auf den Einfluß von positiven Präparaten kommen wir noch zurück. (s.III, 3)

Tabelle 6 bekräftigt die soeben getroffene Aussage über das Anwachsen der Punchzahl bei zunehmendem Zellreichtum. Es wurden die negativen Präparate der Bänder 12, 13, und 15 augewertet, zusammen 248 Präparate. Diese Bänder eignen sich besonders zur detaillierten Punchzählung, da sich auf jedem der 3 Bänder sowohl Spül-, Watteträger-, und Spatelabstriche befinden. Es wurden die durchschnittlichen Punchzahlen der einzelnen Gruppen des Materialreichtums ermittelt, außerdem die Mindest- und Höchstpunchzahl, die ein Präparat innerhalb einer Gruppe auf den einzelnen Bändern erreichte.

	sehr zellreich		zellreich		mittel		wenig Mat.		kein Mat.	
über Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	32	86%	3	43%	1	17%	–	–	–	–
über Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	4	11%	–	–	1	17%	–	–	–	–
Durchschnitt	–	–	1	14%	2	32%	–	–	–	–
unter Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	1	3%	1	14%	1	17%	1	33%	–	–
unter Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	–	–	2	29%	1	17%	2	67%	1	1oo%
Summe:	37	1oo%	7	1oo%	6	1oo%	3	1oo%	1	1oo%

Tabelle 5a

Spülabstriche (54); Negative Präparate Band 1o - 19

	sehr zellreich		zellreich		mittel		wenig Mat.		kein Mat.	
über Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	24	96%	2	5o%	–	–	1	5o%	–	–
über Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	–	–	–	–	2	5o%	–	–	–	–
Durchschnitt	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
unter Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	1	4%	1	25%	–	–	–	–	–	–
unter Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	–	–	1	25%	2	5o%	1	5o%	2	loo%
Summe	25	loo%	4	loo%	4	loo%	2	loo%	2	loo%

Spülabstriche (37) Tabelle 5b

Positive Präparate; Band lo - 19

	sehr zellreich		zellreich		mittel		wenig Mat.		kein Mat.	
über Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	14	56%	2	6%	1	3%	–	–	–	–
über Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	3	12%	9	24%	3	9%	–	–	–	–
Durchschnitt	3	12%	6	16%	4	13%	2	6%	–	–
unter Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	2	8%	lo	27%	8	25%	12	34%	11	24%
unter Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	3	12%	lo	27%	16	5o%	21	6o%	34	76%
Summe	25	loo%	37	loo%	32	loo%	35	loo%	45	loo%

Tabelle 5c

Watteträger (174)

Negative Präparate; Band lo - 19

	sehr zellreich		zellreich		mittel		wenig Mat.		kein Mat.	
über Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	2	67%	2	100%	3	60%	3	30%	–	–
über Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	1	33%	–	–	1	20%	3	30%	2	50%
Durchschnitt	–	–	–	–	–	–	2	20%	–	–
unter Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	–	–	–	–	1	20%	2	20%	1	25%
unter Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	–	–	–	–	–	–	–	–	1	25%
Summe	3	100%	2	100%	5	100%	10	100%	4	100%

Tabelle 5d

Watteträger (23)

Positive Präparate ; Band 10 - 19

	Band 12, 98 neg.Präp.			
	Anzahl d.Präp.	Punches	Pun/Präp.	Mindest-u.Höchstzahl d.Markierungen eines Präp.
sehr zellreich	28	621	22	3 - 55
zellreich	10	99	10	1 - 22
mittel	14	107	8	3 - 19
zellarm	19	101	5	1 - 15
fast kein Material	27	126	4,5	0 - 19

Zellreichtum - Punchzahl;Band 12, 98 Präp. Tabelle 6

Band 13, 57 neg.Präp.

	Anzahl d.Präp.	Punches	P/Präp.	Mindest-u.Höchstz. der Markierungen eines Präparates.
sehr zellreich	12	335	28	1 - 53
zellreich	8	104	13	1 - 31
mittel	12	106	9	0 - 2o
zellarm	14	82	6	2 - 9
fast kein Mat.	11	3o	3	0 - 6

Band 15, 93 neg.Präparate

	Anzahl d.Präp.	Punches	P/Präp.	Mindest-u.Höchstz.d. Mark.eines Präp.
sehr zellreich	3o	861	29	2 - 47
zellreich	19	257	13	4 - 32
mittel	2o	136	7	1 - 3o
zellarm	1o	41	4	0 - 9
fast kein Mat.	14	57	4	0 - 7

Zellreichtum - Punchzahl Tabelle 6

Ergebnis aus Tabelle 6:
Die durchschnittliche Punchzahl nimmt parallel zum Zellreichtum zu. Ebenso erreichten das Maximum der Markierungen auf einem Band immer die "zellreichen" Präparate.

zu cc) Zusammenhang: Abstrichentnahme - Punchzahl

Nach den bisher dargelegten Korrelationen erscheint es offensichtlich, daß Spülabstriche am meisten markiert werden.
Um den Kreis zu schließen, stellten wir in Tabelle 7 an 764 negativen Fällen und in Tabel e 7a an 187 positiven Präparaten die Abstrichmethode den Abweichungen von der durchschnittlichen Markierungszahl (bei jedem Band getrennt errechnet) gegenüber.
Wie erwartet, liegen die Spülabstriche wesentlich häufiger über

dem Punchdurchschnitt als Spatel- und Watteträgerabstriche, letztere dagegen öfter unter dem Punchdurchschnitt (s. Tabelle 7).

	Spatel		Spatel zentr.		Watte		Watte zentr.		Spülab-strich		Spülab. zentr.	
über Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	9o	18%	1	14%	19	1o%	–	–	26	72%	11	58%
über Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	6o	12%	–	–	15	8%	–	–	2	6%	3	16%
Durchschnitt	53	11%	–	–	17	9%	–	–	2	6%	1	5%
unter Durchschnitt wen. a. $\frac{1}{3}$	117	24%	2	29%	46	23%	1	11%	2	6%	1	5%
unter Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	174	35%	4	57%	102	51%	8	99%	4	11%	3	16%
Summe	494	1oo%	7	1oo%	199	1oo%	9	1oo%	36	1oo%	19	1oo%

Abstrichentnahme - Punchzahl

764 neg. Präparate der Bänder 10 - 2o

Tabelle 7

	Spatel		Spatel zentr.		Watte		Watte zentr.		Spülab-strich		Spülabstr zentr.	
über Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	5	1o%	1	5o%	14	22%	3	5o%	29	63%	16	73%
über Durchschnitt weniger a $\frac{1}{3}$	1o	21%	–	–	1o	16%	–	–	5	11%	–	–
Durchschnitt	6	13%	–	–	5	7%	1	17%	2	4%	–	–
unter Durchschnitt weniger a. $\frac{1}{3}$	12	26%	–	–	7	13%	1	17%	3	7%	2	9%
unter Durchschnitt mehr als $\frac{1}{3}$	14	3o%	1	5o%	28	43%	1	17%	7	15%	4	18%
Summe	47	1oo%	2	1oo%	64	1oo%	6	1oo%	46	1oo%	22	1oo%

187 pos. Präp.
Abstrichentnahme - Punchzahl

Tabelle 7a

Der Zusammenhang läßt sich noch präzisieren:
Hierzu wählen wir wieder die Bänder 12, 13, 15 aus. Um die Kollektive vergleichen zu können, beschränken wir uns auf die negativen Präparate (248) dieser Bänder (s.Tab.8 und 8a).
Wir stellten einerseits Abstrichentnahme und Zellreichtum, andererseits Abstrichentnahme und Punchzahl zusammen.
Bildet man das Verhältnis der prozentualen Anteile der zellreichen Spatel- und Watteträger zu dem prozentualen Teil von Spülabstrichen, so kann man folgendes Resumee ziehen:

$$\frac{\%\text{-Anteil zellreicher Spatel-+Wattetr.-Präp}}{\%\text{-Anteil zellreicher Spülabstriche}} = \frac{\text{Punches/Präp Spatel+ Watteträger}}{\text{Pun/Präp- Spülabstr}}$$

	Spatel		Watte		Spül-abstr.		sehr zellreich bzw. zellreich %-Satz: Spatel+Wtr.Abstr / Spülabstriche	Band Nr.
sehr zellreich	19	21%	–	–	9	81%		
zellreich	9	1o%	–	–	1	9%		
mittel	14	16%	–	–	–	–	ca. $\frac{1}{2,5}$	Band Nr.12
zellarm	18	2o%	–	–	1	9%		
kein Mat.	27	32	–	–	–	–		98 neg Präp
Summe	87	1oo%	–	–	11	1oo%		
sehr zellreich	3	8%	–	–	9	1oo%		
zellreich	7	18%	1	1o%	–	–		
mittel	9	24%	3	3o%	–	–	ca. $\frac{1}{4,5}$	Band Nr.13
zellarm	8	21%	6	6o%	–	–		
kein Mat	11	29%	–	–	–	–		57 neg Präp
Summe	38	1oo%	1o	1oo%	9	1oo%		
sehr zellreich	1o	21%	6	22%	16	84%		
zellreich	8	17%	11	41%	2	1o%		Band Nr.15
mittel	11	23%	5	19%	–	–	ca. $\frac{1}{2}$	
zellarm	5	11%	3	11%	1	6%		93 neg Präp
kein Mat.	13	28%	2	7%	–	–		
Summe	47	1oo%	27	1oo%	19	1oo%		

Tabelle 8

Zusammenstellung:Abstrichentnahme- Zellreichtum (248 neg Präp)

Punch/Präp Spatel-+ Watt.Abstr Spülabstr	Spatel	Watteträger	Spülabstrich	
ca. $\frac{1}{2,5}$	87 Präp 822 Pun. 9,4 Pun/Präp		11 Präp 232 Pun 21 Pun/Präp	Band 12 neg Präp
ca. $\frac{1}{4,5}$	38 Präp 286 Pun 7,7 Pun/Präp	1o Präp 7o Pun 7 Pun/Präp	9 Präp 313 Pun 34,7 Pun/Präp	Band 13
ca. $\frac{1}{2,5}$	47 Präp 544 Pun 11,5 Pun/Präp	27 Präp 191 Pun 7 Pun/Präp	19 Präp 49o Pun 25,7 Pun/Präp	Band 15

Zusammenstellung: Abstrichentnahme - Punchzahl Tabelle 8a

Man kann erkennen, daß das Gerät zunächst auch ohne Rücksicht auf Malignität der Kerne umso mehr markiert, je mehr Teilchen man anbietet. Je näher man dem erstrebenswerten Ziel, möglichst zellreiche Präparate zu erhalten, kommt, desto mehr Stellen müssen nachgemustert werden.

b) Einfluß von positiven Präparaten auf die Zahl der Markierungen

Bereits die Gegenüberstellung der Tabellen 5a mit 5b und 5c mit 5d verrät einen auf die Zahl der Punches steigernd wirkenden Einfluß der positiven Präparate. Ermittelt man die durchschnittliche Punchzahl negativer und positiver Präparate im Kollektiv, so liegt diese bei positiven Präparaten höher als bei negativen, was man theoretisch auch erwarten darf, und zwar bei Spatel- um 8, bei Watteträger- um 11,5 und bei Spülabstrichen um 5,5, Punches (s.Tabelle 9).

Negative Präparate der Bänder lo - 19 (alle Filter 4)		
Spatel	Watte	Spülabstrich
521 Präp 7424 Pun	174 Präp 2758 Pun	54 Präp 1546 Pun
15,5 Pun/Präp	16 Pun/Präp	28,5 Pun/Präp

Positive Präparate mit positivem Material auf Film der Bänder lo - 19 (alle Filter 4)		
Spatel	Watte	Spülabstrich
12 Präp 282 Pun	27 Präp 743 Pun	36 Präp 1229 Pun
23,5 Pun/Präp	27,5 Pun/Präp	34 Pun/Präp

Punchzahl pos,und neg.Präp.im Kollektiv Tabelle 9

Die Vergleichbarkeit der Kollektive wurde gewährleistet, indem

1. vorher festgestellter Einfluß der Abstrichmethode dadurch ausgeschaltet wird, da die auf verschiedene Art gewonnenen Präparate getrennt aufgeführt sind
2. alle Präparate mit Filter 4 durchmustert wurden
3. nur positive Präparate mit positivem Material auf Film ververwertet wurden.

Leider läßt sich die dargelegte Tatsache, daß positive Präparate durchschnittlich mehr Punches aufweisen als vergleichbare negative, nicht diagnostisch verwerten, da die Einflüsse des Zellreichtums eine ebenso fördernde Rolle spielen.
Doch immerhin wird damit bewiesen, daß die Vormusterungsmaschine Kerngröße und Kerndichte berücksichtigt, doch nicht in dem selektiven Ausmaß, wie es wünschenswert wäre.

g) Unterschiedliche Beeinflussung der Punchzahl durch Präparte der Pap-Gruppe I und II ?

An 336 Präparaten der Gruppe I und an 419 der Gruppe II wird geprüft, ob die beiden negativen Pap.-Gruppen einen unterschiedlichen Einfluß auf die Zahl der Punches ausüben: Unter Umständen könnten ja vergrößerte gutartige Entzündungszellen

ebenso wie positive Kerne die Anzahl der Markierungen vermehren. Um die Kollektive vergleichen zu können, unterteilen wir wiederum den Zellreichtum, wie es in Tabelle lo geschehen ist.
Nun errechneten wir, wieviele Präparate der Pap-Gruppe I über dem Durchschnitt der Punchzahl ihres Bandes liegen müßten, wenn der Prozentsatz (sehr) zellreicher Präparate von Pap I mit dem von Pap II identisch wäre. Es ergibt sich aus Tabelle lo und Tabelle loa:

	Pap I		Pap II		
sehr zellreich	73	21%	8o	19%	
zellreich	77	23%	62	15%	
mittel	76	23%	86	2o%	
zellarm	57	17%	72	17%	Tabelle lo
fast kein Mat.	53	16%	119	29%	Pap I und Pap II Zellreichtum
Summe	336	loo%	419	loo%	

	Pap I		Pap II		
Präp.über Durchschnitt mehr als 1/3	63	19%	82	2o%	
über Durchschn. weniger a.1/3	32	9%	47	11%	
Durchschnitt	35	1o%	38	9%	
unter Durchschn. weniger a.1/3	87	25%	83	2o%	
unter Durchschn. mehr als 1/3	119	32%	169	4o%	Tabelle loa
Summe	336	loo%	419	loo%	Pap I und Pap II Punchzahl

$$\frac{\text{\%-Satz (sehr)zellreicher Präparate von Pap.I}}{\text{\%-Satz (sehr)zellreicher Präparate von Pap II}} = \frac{\text{\%-Satz überdurchschnittlich markierter Präp.von Pap I}}{X}$$

$$(21{,}4\% + 22{,}9\%) : (19\% + 14{,}7\%) = (18{,}7\% + 9{,}5\%) : X$$

$$X = 21{,}4$$

Man kann in etwa sagen, daß 21,4% der ausgewerteten Präparate von Pap I überdurchschnittlich gekennzeichnet sein würden, wenn die gleichen Voraussetzungen betreffs des Zellreichtums vorlägen.

Aus Tabelle 1o a lesen wir, daß 2o,7% der Präparate von Pap II über dem Durchschnitt liegen, was bedeutet, daß bei gleicher zellreicher Ausgangsbasis fast keine Differenz vorliegt, daß also Pap II-Präparate nicht häufiger als Pap I-Präparate markiert werden.

Diese Aussage trifft sich mit der Theorie der VCSA Konstruktion, die voraussetzt, daß Kerngröße zusammen mit Kerndichte den Impuls zur Markierung nicht zwischen Pap I und Pap II, sondern zwischen positiven und negativen Kernen setzen.

IV. Markierung positiver Präparate durch den VCSA

1. Überblick – Problem des Materialmangels

Als unbedingte Voraussetzung für den Einsatz einer Vormusterungsmaschine muß gelten, daß sie sämtliche positiven Präparate herausfindet. Während falsch positive Diagnosen von seiten der Maschine eine Mehrarbeit bei der Nachmusterung bedeuten, stellen falsch negative Befunde den Wert eines Cytoanalysers völlig in Frage.
Wir sammelten 187 positive Präparate, die wir neben negativen Präparaten auf verschiedene Filme auftrugen.

In 71 Fällen (=38%) fand sich zwar im Parallelabstrich positives Material, nicht aber auf dem Film. 2o dieser 71 Fälle stammen aus der Ambulanz. Hier ging der Abstrich für das Cytologische Labor voraus. In den restlichen 51 bereits klinischen, aber unbehandelten Fällen wurde zuerst für den VCSA abgenommen, dann erfolgte der Kontrollabstrich. Bei zwei anderen Prüfern (persönliche Mitteilungen liegen vor) zeigten sich noch größere Schwierigkeiten betreffs des positiven Material auf Film.
Die Firma Vickers glaubt, durch Entwicklung einer schleimlösenden Substanz dieses Problem zu beseitigen.

Da die Vormusterungsmaschine nicht anzeigt, ob sich überhaupt Zellen auf dem Film befinden, hätte man diese Präparate, läge kein Parallelabstrich vor, als negativ eingestuft. In der Routinediagnostik des Labors würde man hingegen eine Wiederholung des Abstriches verlangen, da ein Mangel an Zellreichtum sofort ersichtlich ist.

In den nun folgenden Teilen dieses Kapitels wird untersucht, wie die Vormusterungsmaschine arbeitet, wenn tatsächlich positives Material auf Film zu finden ist.

2. Inwieweit werden positive Gesichtsfelder auf dem Film markiert ?

In Bezug auf diese Fragestellung können wir 17 Vorsorge- und 99 von klinischen, aber unbehandelten Fällen gewonnenen Abstrichen auswerten.

Wir zählten die markierten Gesichtsfelder (="playback"), in denen sich positive Zellen oder Zellgruppen befanden. Anschliessend wurde das gesamte Präparate manuell durchgemustert, d.h. es wurden alle verdächtigen Zellen auch in den nicht markierten Gesichtsfeldern erfaßt und notiert. Jedes dieser 116 Präparate ist in Tabelle 11 einzeln angegeben. Hierzu einige Erläuterungen:

Spalte 1 : Diese Beurteilung (Pap.Gruppe) erhielt der Parallelabstrich im cytologischen Labor

Spalte 2 : Präparatnummer auf dem Film

Spalte 3 : Beurteilung des Zellreichtums

Spalte 4 : 1= sehr zellreich, 2= zellreich, 3= mittel, 4= zellarm, 5= fast kein Material

Rubrik v a r i a b l e

Spalte 4 : Anzahl der Gesichtsfelder mit positiven Zellen oder Zellgruppen bei manueller Durchmusterung des Präparates auf Film. Wir zählten bis zu 3o Gesichtsfelder aus. Befinden sich mehr als 3o Gesichtsfelder mit pos.Material in dem Präparat, so ist in der Tabelle "üb.3o" angegeben.

Spalte 5 : Diese Pap-Gruppe könnte dem Präparat auf Film nach der manuellen Durchmusterung gegeben werden.

Rubrik p l a y b a c k

Spalte 6 : Filter, mit dem das Präparat automatisch durchgemustert wurde

Spalte 7 : Zahl der Gesamtmarkierungen des Präparates

Spalte 8 : hier wurde die Zahl der markierten Gesichtsfelder mit positivem Material notiert.

Spalte 9 : Pap-Gruppe, die das Präparat auf Grund der markierten Gesichtsfelder erhalten könnte.

Spalte 1o : Nummer des Films, auf dem das Präp. sich befindet

Spalte 11 : Beurteilung des Parallelabstrichmaterials durch das Labor, die Materialmenge betreffend

Spalte 12 : Vorsorge oder Klinik; bei letzterem klinische Diagnose:

Cp = collum carcinom primum

Cs =.collum carcimom secundum

Ct = collum carcinom tertium

Tabelle 11:

Zusammenstellung 116 positiver Präparate

Vergleich : "variable" - "playback"

positive Gesichtsfelder

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reich-tum	variable		Filter	playback		
			pos. G.F.	Pap. Gr.		Punch-zahl	davon pos. G.F.	Pap. Gr.
1) V	0087	3	5	V	2	75	1	III
2) V	0088	4	2	V	2	57	ø	°/.
3) kein Zellm.	0089	4	6	III	2	5o	ø	°/.
4) V	0094	3	3	IVa	2	42	3	IVa
5) V	0169	2	37	V	4	7	3	V
6) V	0187	2	2o	V	3	26	5	III
7) V	0317	2	25	V	4	21	5	V
8) IIID	0415	2	14	IIID	3	6	ø	°/.
9) III	0549	4	(1)	III	4	2	ø	°/.
1o) V	0719	4	2	III	4	3	ø	°/.
11) IVa	0762	3	12	IVa	4	28	8	IV
12) V	0823	4	14	IV	4	2o	5	IIID
13) IVa	0824	1	12	IV	4	32	1	III
14) IIID	0927	3	3	IIID	4	31	ø	°/.
15) IVa	0933	1	1	IIID	4	31	ø	°/.
16) V	1014	1	üb.3o	V	4	5o	42	V
17) V	1018	1	üb.3o	V	4	58	51	V
18) V	1043	1	üb.3o	V	4	477	38	V

Band Nr.	Cytolog.	Klinik
2	massenhaft atypische Zellen	coll stumpf,Neoplasma
2	deutl.Strahlenveränd,daneben jedoch höchst suspekte Zellen;auch freiliegende hypochromatische Kerne	Coll Ca
2	kein Zellmaterial	Coll Ca
2	Dyskaryosen in allen Schichten sprechen für einfach gest.Atypie	amb
3	massenhaft Tu-Zellen,Hyperchromasie, freiliegende Kerne,histol.Abklärg.	amb
4	sehr viele vergrößerte u.entzündete Kerne;Hyoerchromasie	Ct
6	massenhaft atyp.Zellen, die für ein invasives Ca sprechen	Ct
8	reichlich Dyskaryose,Wiederholung	amb
lo	dubiose Zellgruppen;baldige Wh mit mehr Zellmaterial	Coll Ca
12	Tu-Zellen vorhanden	Coll Ca
12	massenhaft atyp.Zellen,v.a.aus unteren Schichten stammend;hyperchromatische Kerne- und Spindelzellen	amb
13	ausschließlich Tu-Zellen	Coll Ca
13	zahlreiche Dyskaryosen,vorwiegend in d.unt.Schichten;histol.Klärung	amb
14	Hornschollen;Dyskaryosen i.d.mittleren Schichten	amb
14	Dyskaryosen,vorwiegend i.d.unteren Schichten;zunächst cytol.Kontrolle	Portio ektopie;amb.
15	massenhaft Tu-Zellen	Coll Ca III
15	massenhaft Tu-Zellen	Coll Ca III
15	Tu-Zellen	Coll Ca III

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reich-tum	variable		Filter	playback		
			pos. G.F.	Pap. Gr.		Punch-zahl	davon pos. G.F.	Pap. Gr.
19) V	1044	1	üb.3o	V	4	48	9	V
2o) IV	1046	1	2	IV	4	54	ø	°/.
21) V	1049	4	11	V	4	13	2	III
22) IV	105o	2	3	IV	4	3o	3	IV
23) V	1058	2	üb.3o	V	4	3o	3o	V
24) V	1073	4	17	V	4	28	6	V
25) IV	1079	3	üb.3o	IV	4	52	9	IV
26) V	1082	3	üb.3o	V	4	56	13	V
27) V	109o	2	üb.3o	V	4	8	5	III
28) IV	1092	1	üb.3o	IV	4	54	27	IV
29) V	1093	1	üb.3o	V	4	45	35	V
3o) III	1094	1	12	III	4	52	1	III
31) II	1095	1	7	III	4	35	ø	°/.
32) III	1127	1	3	III	4	45	1	III
33) III	1128	1	8	III	4	59	1	III
34) III	1151	5	3	III D	4	1o	ø	°/.
35) V	1152	3	6	V	4	5	ø	°/.

Band Nr.	Cytolog.	Klinik
15	einige Gruppen atyp.Zellen,an einer Stelle wie Spindelzellen aussehend	Coll Ca III
15	wenige dubiose Zellen z.T.von spindelartiger Form	Plattenepithel-Neo. d.Coll vor I.Ra-Einlage
15	einige Gruppen atyp.Zellen;an einer Stelle wie Spindelzellen aussehend	Coll Ca III
15	wenige zweifelhafte Zellen z.T.von spindelartiger Form	Plattenepithel;Neo. d.Coll
16	Tu-Zellen	Coll Ca III,noch nicht behandelt
16	fast ausschließlich atyp.Zellen	Cernical Neo
16	Dyskaryose in allen Schichten,vorwiegend i.d.unterenSchichten;Hyperchromasie;z.T.auch atypische Zellen	v.a.Coll Ca
16	wenige atyp.Zellen	Coll III
16	atyp.Zellen vorhanden	Coll Ca III
16	Dyskaryose in allen Schichten,vorwiegend i.d.unteren;Hyperchromasie; teilweise auch atyp.Zellen	na.Coll Ca
16	fast ausschließlich atyp.Zellen	Cernical Neo
16	wenige zweifelhafte Zellen bei spärlichem Zellmaterial	Plattenapi.des hint. Scheidengewölbes
16	keine atyp.Zellen nachweisbar, vergrößerte Kerne	Coll III
16	kaum Zellmaterial,einige susp.Z.	Coll III
16	kaum Zellmaterial,einige susp.Z.	Coll III
17	Dyskaryosen i.allen Schichten,daneben aber auch kleine Zellen mit hyperchrom.Kernen,die aber eine Ca-Diagn.nicht m.Sicherheit ermöglichen	Coll III
17	atyp.Zellen vorhanden	Coll II

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reich-tum	variable		Filter	playback		
			pos. G.F.	Pap. Gr.		Punch-zahl	davon pos. G.F.	Pap. Gr.
36) V	1153	5	2	III	4	3	ø	°/.
37) V	1155	5	4	III	4	4	ø	°/.
38) V	1156	3	2o	V	4	3	ø	°/.
39) IIID	1186	4	6	IIID	4	7	ø	°/.
4o) V	1192	1	üb.3o	V	4	54	52	V
41) III	1193	1	üb.3o	V	4	3o	13	V
42) III	1194	5	2	III	4	5	ø	°/.
43) III	1195	2	üb.3o	IV	4	31	8	III
44) III	1196	1	üb.3o	V	4	42	27	III
45) V	1197	4	üb.3o	V	4	15	12	V
46) IV	1234	2	üb.3o	IV	4	37	4	IV
47) V	1235	3	15	V	4	18	6	V
48) V	1244	4	12	V	4	8	4	V
49) V	1245	1	25	V	4	49	2o	V
5o) V	1254	5	29	V	4	2	2	V
51) IV	1256	1	üb.3o	IV	4	12	3	IV

Band Nr.	Cytolog.	Klinik
17	atyp.Zellen vorhanden	Coll II
17	atyp.Zellen vorhanden	Coll sec
17	neben reichlich Blut fast ausschließlich atyp.Zellen	Coll III
17	einzelne Dyskaryosen,v.a.leichte Dysplasie	amb
17	massenhaft Tu-Zellen	Plattenepi.Ca.des Coll II a
17	wenig Zellmaterial,kaum susp. Zellen	Coll II B Krater anstelle des Muttermun.
17	neben wenigen susp.Zellen auch hyprchrom.Kerne,die jedoch keine Ca-Diagn.erlauben	Coll II A mit Exophyt der vorderen Muttermundlippe
17	wenig Zellmat.,kaum susp.Zellen	Coll II B,Krater anstelle Muttermund
17	wenig susp.Zellen,daneben auch hyperchrom.Kerne,die jedoch keine Ca-Diagn.erlauben	Coll II A mit Exoph. d.vord.Muttermundlippe
17	massenhaft Tu-Zellen	Plattenepi.Ca des Coll II a
17	reichlich Dyskar.aus unt.Zellschichten;Hyperchr.und hyperchr. freiliegende Kerne	amb
18	Tu-Zellen,wesentl.weniger Mat.als im Abstrich der Ambulanz	Kolpitis (alte Tbc)
18	Tu-Zellen,wesentl.weniger Mat.als im Abstrich der Ambulanz	Kolpitis
18	freilliegende Kerne,Hyperchr. Anisonukleose	Coll I
18	ausschließließlich atyp.Zellen	Ct
18	recht zweifelhafte Z.und atyp.Z.	Cs

Cytol Labor Pap-Gr.	Präp. Nr.	Zell-reich-tum	variable		Filter	playback		
			pos. G.F.	Pap. Gr.		Punch-zahl	davon pos. G.F.	Pap. Gr.
52) IV	1257	4	2	III	4	21	ø	II
53) III	1258	1	3	III	4	4o	ø	II
54) V	126o	1	üb.3o	V	4	35	33	V
55) V	1261	5	3	III	4	11	ø	°/.
56) V	1278	5	9	III	4	21	3	III
57) V	1279	1	üb.3o	V	4	36	31	V
58) V	1281	1	üb.3o	V	4	4o	31	V
59) V	1282	5	5	III	4	22	2	III
6o) V	1283	1	üb.3o	V	4	33	24	V
61) V	1284	3	4	III	4	3o	3	III
62) V	1285	1	üb.3o	V	4	4o	36	V
63) V	1286	4	5	III	4	16	4	III
64) III	1306	2	6	III	4	18	3	III
65) V	1354	3	27	IV	4	19	7	IV
66) III	1355	1	üb.3o	V	4	49	45	V
67) V	1359	5	4	III	4	18	2	III
68) V	1387	4	15	V	4	4o	8	V
69) IV	1389	5	19	V	4	9	ø	°/.
7o) IV	139o	3	üb.3o	V	4	53	4	III
71) III	1393	5	3	III	4	32	ø	°/.
72) IV	1395	3	3	III	4	29	1	III
73) V	401	1	5	III	4	36	2	III

Band Nr.	Cytolog.	Klinik
18	reichlich zweifelhafte Zellen und atyp.Zellen	Cs
18	zweifelhafte Z.vorhanden	Coll I
18	ausschließl.atyp.Zellen	Vag-Ca
18	ausschließl.atyp.Zellen	Vag-Cä
18	reichl.atyp.Zellen	Cs
18	fast ausschließl.atyp.Zellen	Cs
18	atyp.Zellen	Cs/t
18	atyp.Zellen	Cs/t
18	Tu-Zellen vorhanden	Ct
18	Tu-Zellen vorhanden	Ct
18	Tu-Zellen vorhanden	Ct
18	Tu-Zellen vorhanden	Ct
18	Entzündung,Wdhg in 3 Wochen	amb
19	neben reichl.zweifelh.Zellmat. einige Gruppen Spindelzellen	Coll Ca
19	in zellarmen Abstrich einige wenige zweifelhafte Zellen	Cs
19	Tu-Zellen vorhanden	Coll Ca
19	atyp.Zellen vorhanden	Ct
19	atyp.Zellen vorhanden;Spindelzellen	Ct
19	atyp.Zellen vorhanden,Spindelz.	Ct
19	reichl.zweifelh.Zellen mit vorwiegend hyperchrom.Kernen	Verdacht auf Neopl.
19	Dyskar.in allen Schichten,bes.in d.tiefen;starke Vergrößerung,teilweise Hyperchrom.d.Kerne	klinische Kontrolle: Leukoplakie
19	reichl.atyp.Zellen	Cs/t

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reichtum	variable		Filter	playback		
			pos. G.F.	Pap. Gr.		Punch-zahl	davon pos. G.F,	Pap Gr.
74) V	1402	2	üb.3o	V	4	53	13	V
75) V	1403	4	16	IIID	4	32	2	III
76) nicht beurtb.	1404	2	6	III	4	46	ø	II
77) V	1406	4	üb,3o	V	4	4	ø	°/.
78) V	1417	5	4	III	4	32	ø	IIW
79) IV	1418	1	üb.3o	V	4	55	49	V
8o) IV	1419	4	9	III	4	38	4	III
81) IV	1422	1	15	IV	4	48	14	IV
82) V	1424	1	üb.3o	V	4	43	39	V
83) V	1425	4	15	IV	4	38	6	IV
84) V	1436	2	üb.3o	V	3	6	1	V
85) nicht beurtb.	1438	2	7	III	3	8	4	III
86) V	1451	2	üb.3o	V	3	37	34	V
87) V	1452	2	23	V	3	15	8	IVa
88) IV	1453	1	üb.3o	V	3	48	44	V
89) IV	1454	4	14	V	3	12	ø	°/.
9o) V	1455	1	üb.3o	V	3	24	24	V
91) V	1456		4	III	3		2	III
92) nicht beurtb.	1459	3	21	III	3	9	3	III
93) IIID	1462	4	3	IIID	3	4	ø	°/.
94) II	1463	2	18	V	3	28	9	V
95) V	1465	1	üb.3o	V	3	33	32	V

Band Nr.	Cytolog.	Klinik
19	atyp.Zellen vorhanden	Cs
19	atyp.Zellen vorhanden	Cs
19	kaum Zellmat.,nicht beurteilbar	Cp, z.Zt.Str.
19	massenhaft atyp.Zellen,die mehr dem Plattenepi.ähneln als Drüsenzellen	Corpar Ca,z.Zt.Str.
19	reichl.atyp.Zellen	Coll III,Krater anstelle Muttermund
19	Tu-Zellen vorhanden	Ct
19	Tu-Zellen vorhanden	Ct
19	wenig atyp.Zellen	Cp
19	massenhaft atyp.Zellen	Cs
19	massenhaft atyp.Zellen	Cs
2o	massenhaft atyp.Zellen	Cs
2o	Beurteilung nicht möglich	Coll Ca
2o	atyp.Zellen vorhanden	Cs
2o	atyp.Zellen vorhanden	Cs
2o	reichl.atyp.Zellen	Coll Ca
2o	reichl.atyp.Zellen	Coll Ca
2o	atyp.Zellen vorhanden	Cs
2o	atyp.Zellen vorhanden	Cs
2o	sehr viel Blut,nur sehr wenig Zellen vorhanden;Beurteil.nicht mögl.	Cs
2o	Dyskaryosen in d.oberen u.teilweise mittleren Schichten	amb
2o	Tu-Zellen vorhanden	Coll Ca
2o	massenhaft atyp.Zellen	Ct

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reich-tum	variable		Filter	playback		
			pos. G.F.	Pap. Gr.		Punch-zahl	davon pos. G.F.	Pap. Gr.
96) V	1467	2	18	III	3	3o	5	III
97) V	1472	3	7	III	3	8	ø	°/.
98) V	1473	5	3	III	3	16	ø	°/.
99) kein Ca-Mat.	1474	4	3	IV	3	1	ø	°/.
1oo) W	1478	2	4	III	3	43	ø	°/.
101) V	148o,	1	üb.3o	V	3	34	32	V
102) V	1481	5	7	III	3	4	1	IIW
103) keine atyp.Z.	1482	1	üb.3o	V	3	43	9	IV
104) III	1484	2	25	V	3	5	1	IIW
105) V	1486	1	üb.3o	V	3	37	37	V
106) V	1487	4	6	IIID	3	0	ø	°/.
107) V	1488	4	8	V	3	25	2	III
108) IV	1489	2	üb.3o	IV	3	27	14	IV
109) V	1492	2	üb.3o	V	3	8	5	V
11o) III	1494	1	7	III	3	33	ø	°/.
111) V	1498	1	18	IV	3	12	3	III
112) III	15oo	1	üb.3o	V	3	48	12	V
113) V	1502	3	üb.3o	V	3	1o	2	III
114) V	1503	5	üb.3o	V	3	2	ø	°/.
115) V	1505	1	üb.3o	V	3	33	31	V
116) V	1506	5	2	III	3	6	ø	°/.

Band Nr.	Cytolog.	Klinik
2o	reichl.atyp.Zellen vorhanden	Ct
2o	massenhaft atyp.Zellen	Pt:plump,bröckeliges Gewebe in der Portio
2o	massenhaft atyp.Zellen	Pt plump,bröckeliges Gewebe in der Portio
2o	kein Mat,das vom Ca kommen könnte	Coll Ca
2o	keine Beurteilung,zu wenig Mat.	Cp
2o	massenhaft atyp.Zellen	Cs
2o	massenhaft atyp.Zellen	Cs
2o	keine atyp.Zellen	Coll Ca
2o	wenig suspekte Zellen	Coll Ca
2o	zahlreiche atyp.Zellen	Cs
2o	zahlreiche atyp.Zellen	Cs
2o	atyp.Zellen	Rectum neopl.,Vag. durchgetrennt
2o	wenig atyp.Zellen	Coll Ca
2o	Tu-Zellen vorhanden	Coll Ca
2o	nur wenig suspekte Zellen	Cp
2o	reichlich atypische Zellen	Cp
2o	nur wenig suspekte Zellen	Coll Ca
2o	fast ausschließlich Tu-Zellen	Ct
2o	fast ausschließlich Tu-Zellen	Ct
2o	reichlich atyp.Zellen vorhanden	Ct
2o	reichlich atyp.Zellen vorhanden	Ct

Zusammenfassendes Ergebnis aus Tabelle 11:

a) Tabelle 11 läßt vergleichen, wieviele positive Gesichtsfelder in einem auf Film aufgetragenen Präparat vorhanden sind, und wieviele davon markiert sind.
Von den vorhandenen positiven Gesichtsfeldern (G.F.) wurden herausgefunden:

100% - 75% d. pos. G.F., markiert bei 27 Präparaten = 23%
75% - 50% d. pos. G.F., markiert bei 6 Präparaten = 5%
50% - 25% d. pos. G.F., markiert bei 22 Präparaten = 19%
25% - 5% d. pos. G.F., markiert bei 17 Präparaten = 14%
5% - 1% d. pos. G.F., markiert bei 11 Präparaten = 10%
0% d. pos. G.F., markiert bei 33 Präparaten = 28%

In 28% der Präparate wurden die positiven Stellen nicht herausgefunden, bei 24% der Präparate nur höchstens 1/4 der möglichen positiven Gesichtsfelder.

b) In diesem Zusammenhang interessiert noch die Relation, in der bei den aufgeführten 116 Präparaten die "falsch positiven" zu den tatsächlich positives Material markierenden Punches stehen.
Nehmen wir die Gesamtzahl der Punches eines Präparates als 100% und errechnen, welcher Prozentsatz dieser Punchzahl durch positive Stellen verursacht wurde, so ergibt sich:

100% - 75% d. Punches sind pos. bei 21 Präparaten ≙ 18%
75% - 50% d. Punches sind pos. bei 4 Präparaten = 4%
50% - 25% d. Punches sind pos. bei 16 Präparaten = 14%
25% - 5% d. Punches sind pos. bei 24 Präparaten = 15%
5% - 1% d. Punches sind pos. bei 17 Präparaten = 15%
0% d. Punches sind pos. bei 33 Präparaten = 28%

Bei 58% der ausgewerteten Präparate nehmen die "falsch positiven" Markierungen über die Hälfte der Punches pro Präparat ein.

c) Der Parallelabstrich von Präparat Nr. 3, 76, 85, 92 (aus der

Durchnummerierung 1 - 116 von Tabelle 11) wurde im cytolog.Labor auf Grund von Material-Mangel bzw.ungenügender Qualität als nicht beurteilbar eingestuft, während sich auf Film positives Material fand und in 3 Präparaten auch bedingt markiert wurde. (vgl.Tabelle 11)

Bei Präparat Nr. 31, 94, 99, 103 zeigten sich auf Objektträgern keine verdächtigen Zellen, die eine Einstufung in Pap III - V gerechtfertigt hätten. Es handelt sich bei diesen 4 Präparaten um bereits klinische Fälle.
Die manuelle Durchmusterung der Präparate auf Film ließ jedoch positive Gesichtsfelder erkennen. Bei 2 Präparaten wurden sie z.T. durch den Apparat herausgefunden. (vgl.Tabelle 11)

3. Diagnostische Sicherheit des VCSA bei den einzelnen Pap - Gruppen

Legen wir eine Einstufung des Parallelabstriches durch das cytologische Labor zugrunde (s.Spalte 1, Tab 11), so fällt auf, daß vor allem als III D diagnostizierte Präparate nicht an positiven Stellen markiert wurden (vgl.Präp Nr. 8, 14, 39, 93 in Tab. 11). Es handelt sich hierbei um Dysplasien der oberflächlichen Zellschichten. Sämtliche 4 Präparate stammen aus der Ambulanz. Gerade verdächtige Vorsorgeabstriche in wenig fortgeschrittenem Stadium zu erfassen müßte die Hauptaufgabe einer Vormusterungsmaschine sein.
Ebenfalls relativ schlecht wurden Präparate der Gruppe IVa herausgefunden (Nr. 4, 11, 13, 15).
Hinzu kommt, daß neben diesen jeweils 4 Präparaten der Gruppe III D und IVa 11 Präparate dieser beiden Gruppen kein positives Material auf Film boten.
Über die Diagnostik der einzelnen Pap-Gruppen durch den VCSA gibt Tabelle 12 Auskunft. Es wurde wiederum errechnet, welcher Prozentsatz der auf Band befindlichen positiven Gesichtsfelder von dem Gerät markiert wurde.
In Tabelle 12 sind die vom Labor als nicht beurteilbaren Ab-

striche nicht enthalten, ebenso nicht die 4 Abstriche, bei denen sich kein verdächtiges Material im Parallelabstrich fand.

von den vorhandenen pos,GF/Präp wurde markiert:	Pap III Präp.	%	Pap III D Präp.	%	Pap IV Präp	%	Pap IVa Präp	%	Pap V Präp	%
100% - 75%	2	12%	–	–	5	31%	–	–	20	30%
75% - 50%	–	–	–	–	–	–	1	25%	4	4%
50% - 25%	4	24%	–	–	3	19%	–	–	15	22%
25% - 5%	4	24%	–	–	1	6%	1	25%	9	14%
5% - 1%	1	6%	–	–	2	13%	–	–	7	10%
0%	6	34 %	4	100%	5	31%	2	50%	13	20%
Summe	17	100%	4	100%	16	100%	4	100%	67	100%

Diagnostische Sicherheit des VCSA bei den einzelnen Pap-Gruppen — Tabelle 12

Ergebnis: Die diagnostische Sicherheit des VCSA scheint wenig unterschiedlich bei Präparaten der Pap-Gruppe III, IV, und V zu sein, während positive Stellen von Präp. der Gruppe III D und IVa gar nicht oder kaum markiert wurden.

4.Einfluß des Material- Reichtums auf die Diagnostik positiver Präparate durch den VCSA.

Auch auf das Erkennen positiver Stellen hat der Materialreichtum eines Präparates einen nicht unerheblichen Einfluß, insofern als zellreiche positive Präparate mehr Gesichtsfelder mit positivem Material anbieten. Es erfolgen bei zellreichen Präparaten prinzipiell mehr Markierungen (wie bereits in Kap.III "Punchzahl" dargelegt wurde). Dadurch werden natürlich auch mehr positive Stellen erfaßt. So wird man sich das Ziel setzen, möglichst zellreiche Präparate zu gewinnen. Hierbei muß allerdings der Nachteil in Kauf genommen werden, daß die Zahl falsch

negativer Punches ebenfalls ansteigt.

Tabelle 13 zeigt den Zusammenhang des Zellreichtums mit der Anzahl positiver Gesichtsfelder bei positiven Präparaten (zus. 116 positive Präparate).

Tabelle 13a zeigt bei den 116 pos.Präparaten, die auch pos. Material auf dem Film vorweisen, die Korrelation: diagnostische Sicherheit: abhängig vom Zellreichtum.

	sehr zellreich		zellreich		mittel		zellarm		fast kein Material	
1- 5pos.GF.	5	12,5%	1	6%	5	28%	7	35%	14	64%
6-15 " "	5	12,5%	2	12%	4	24%	9	45%	5	23%
16-3o " "	2	5 %	6	35%	4	24%	2	1o%	2	9%
üb.3o " "	28	7o %	8	47%	4	24%	2	1o%	1	4%
Summe:	4o Präp	1oo% %	17 Präp	1oo% %	17 Präp	1oo% %	2o Pr.	1oo% %	22 Pr.	1oo% %

Anzahl d.pos.Gesichtsfelder bei Variable/ Zellreichtum — Tabelle 13

	sehr zellreich		zellreich		mittel		zellarm		fast kein Material	
1oo%-75% d.pos. GF.bei:	23	59%	1	6%	1	6%	2	1o%	–	–
75%-5o% "	3	8%	1	6%	1	6%	1	5%	–	–
5o%-25% "	4	1o%	4	23%	4	25%	6	28%	–	–
25%- 5% "	4	1o%	5	29%	4	22%	4	14%	–	–
5%- 1% "	2	5%	3	18%	3	16%	1	5%	2	1o%
0% "	3	8%	3	18%	5	28%	8	38%	14	7o%
Summe:	39	1oo%	17	1oo%	18	1oo%	22	1oo%	2o	1oo%

Korrelation: Diagnostische Sicherheit/Zellreichtum — Tabelle 13a

5. Warum werden positive Kerne übersehen ?

a) Kernmessungen an der Vormusterungsmaschine

Tritt eine hohe Differenz auf zwischen markierten Gesichtsfeldern mit positiven Zellen und verdächtigen Gesichtsfeldern, welche nicht erkannt wurden, so muß zunächst der Frage nachgegangen werden, ob in den suspekten, aber nicht markierten Gesichtsfeldern überhaupt Kerne liegen, welche in die zu registrierende Größenordnung zwischen 12μ und 18μ fallen.
Hierzu wählten wir 5 Präparate, maßen die Kerne aus sowohl in den markierten Gesichtsfeldern (mittels playback) als auch in den nicht markierten (mittels variable). Die Zahl der Messungen in Präparaten mit einer sehr hohen Anzahl positiver Gesichtsfelder beschränkten wir auf 10 Felder.
Die Auswahl der 5 Präparate erfolgte zufällig; es wurde lediglich darauf gachtet, daß das Präparat gut meßbare und viele nicht markierte Kerne bot.
Die Ursachen, weshalb die Kerne nicht markiert wurden, werden S.68 diskutiert. Ebenso wird an jener Stelle der Frage nachgegangen, inwieweit die Kerne in der 10m langen Refraktärphase liegen.

Für die Kernmessungen verwendeten wir ein Okularmikrometer, Marke "Vicker's", das sich auf den Tubus des Mikroskops der Vormusterungsmaschine aufsetzen ließ.
Ergebnis der Messungen bringt Tabelle 14. Dazu einige Erläuterungen:

Jedes der 5 Präparate wird einzeln aufgeführt.
Die Rubrik p l a y b a c k bezieht sich auf die markierten Gesichtsfelder, die Rubrik v a r i a b l e auf nicht markierte GF mit positivem Material. Der
Spalte 1 mit 4 ist jeweils die Anzahl der Kerne zu den entsprechenden Größenordnungen zu entnehmen, wobei eine Querzeile einem Gesichtsfeld entspricht.
Spalte 5 berücksichtigt den Chromatingehalt und damit in etwa die Kerndichte, und zwar:

p = polychrochromatisch, h = hyperchromatisch,
n = normochromatisch

Spalte 6 schließlich zeigt die Lage der suspekten Kerne im Gesichtsfeld, die deshalb von Bedeutung ist, da das Gerät im äußeren Drittel des Gesichtsfeldes liegende Kerne nicht erfaßt;

1 = zentrale Lage

2 = nicht ganz zentral

3 = randständige Lage.

Präp. Nr. 1256

Pap IV; 12 Punches;

üb.3o pos.GF bei variable, davon 3 markiert.

Anzahl der Kerne in einer Größenordnung von:						
<12µ	12-15µ	15-18µ	>18µ	Chromatin	Lage im GF	
6o	–	9	–	p	1	"playback": markierte Stellen
6o	–	6	1	p	2	
5o	–	7	–	p	1	
6o	4	4	–	h + p	1	
4o	3	11	–	p + n	2	
5o	–	19	–	p	2	"variable": pos.GF. nicht markiert
6o	–	11	2	p	2	
2o	–	12	–	h	2	
2o	–	12	–	p	2	
4o	–	1	2	p	1	
5o	–	–	1	p	22	
3o	–	2o	–	h + p	2	
4o	–	12	–	h	2	

Präp.Nr. 1354

Pap V; 19 Punches

27 pos. GF, bei variable; davon 7 markiert.

Anzahl der Kerne in einer Größenordnung von:				Chromatin	Lage im GF	
<12µ	12-15µ	15-18µ	>18µ			
19	3	1	–	p	2	
9	–	1	–	p	2	
11	–	–	1	p	2	"playback":
13	–	2	–	p	1	markierte Stellen
8	1	1	–	p	2	
12	2	1	–	p	2	
7	–	3	–	p	3	
2	1o	–	–	h	1	
1o	–	1	–	p	3	
18	2	–	–	h	2	
1o	4	–	–	p	1	"variable":
11	–	7	–	p	2	pos.GF.
4	–	4	–	p	2	nicht markiert
7	–	3	–	h	1	
9	–	2	1	p	2	
8	–	1	–	p	1	
11	–	–	1	p	2	

Präp.Nr. 1387

Pap V; 4o Punches

15 pos. GF bei variable, davon 8 markiert

Anzahl der Kerne in einer Größenordnung von:

<12µ	12-15µ	15-18µ	>18µ	Chromatin	Lage im GF	
–	–	–	1	p	2	
–	–	–	1	p	2	
–	–	–	1	p	2	
6	1	4	2	h	1	"playback":
4	–	1	–	p	2	markierte Stellen
2	1	1	1	p	3	
–	–	1	1	p	2	
4	–	–	3	p	2	
3	–	2	–	p	1	
1	–	1	2	p	2	
1	–	1	1	p	1	
1	–	4	1	p	2	"variable":
3	1	2	–	p	1	pos.GF.
6	–	–	1	p	1	nicht markiert
4	–	–	1	p	1	
5	2	–	2	p	2	
3	–	2	1	p	1	
11	1	–	1	p	1	

Präp. Nr. 1403

Pap V; 32 Punches

16 suspekte Stellen, davon 2 markiert

Anzahl der Kerne in einer Größenordnung von:				Chromatin	Lage im GF	
<12µ	12-15µ	15-18µ	>18µ			
–	–	1	1	p	3	"playback":
–	–	1	–	p	3	markierte Stellen

<12µ	12-15µ	15-18µ	>18µ	Chromatin	Lage im GF	
1	4	2	–	p	1	
2	1	1	–	p	3	
–	–	1	–	p	3	
3	–	3	–	p	3	"variable":
–	–	1	–	p	2	pos. GF.
1	–	1	–	p	1	nicht markiert
–	–	–	2	p	3	
–	–	1	–	n	1	
–	–	2	–	p	3	
1	–	–	1	p	1	

Präp. Nr. 1487

Pap V; 0 Punches

6 GF mit Dyskaryosen bei variable (diese mußten in die Gruppe III D eingestuft werden); keine markiert

Anzahl der Kerne in einer Größenordnung von:				Chromatin	Lage im GF	
12	12-15	15-18	18			
–	–	–	–	–	–	"playback": ∅
1	2	–	–	p	2	
–	5	–	–	h	3	
–	3	–	–	p	3	"variable":
–	–	–	1	p	2	pos.GF.
–	–	1	–	p	3	nicht markiert
–	2	1	–	p	2	

Kernmessungen positiver markierter ("playback") und nicht markierter ("variable") Kerne.

Tabelle 14

b) Ergebnis

Diese Aufstellung ergänzt die Tabelle 11 insoweit, als der teilweise hohen Differenz zwischen erkennbaren, aber nicht markierten Gesichtsfeldern mittels quantitativer Messungen nachgegangen wird. Der Vergleich von "playback" mit "variable" ergibt, daß die Ursachen für ein Übersehen positiver Stellen nicht etwa darin liegen, daß die positiven Kerne nicht die entsprechende Größe aufweisen, sondern anderweitig zu suchen sind:

1) Refraktäre Phase ?

Wir hatten bei den Messungen darauf geachtet, daß keiner der ausgemessenen Kerne in einem Gesichtsfeld liegt, das in die refraktäre Sperre von 1cm nach einer positiven Markierung liegt.

Bei Präparat Nr. 1354, 1387, 1403 kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß die gemessenen Kerne in die Sperre nach falsch positiven Markierungen fallen. In diesem Falle müßte die Sperre verkürzt werden. Es stimmt bedenklich, daß die Präparate eine so große Anzahl (12, 32, 3o) falsch positive Punches aufweisen, und somit ein Bruchteil nur von den vorhandenen positiven Gesichtsfeldern markiert wird.

2) Scanning System ?

Bei Präparat 1256 (12 Punches, davon 3 pos. Punches), kann die Ursache des geringen Erkennens positiver Gesichtsfelder kaum in der refraktären Sperre gesucht werden, wie die Zahlenverhältnisse zeigen. Ob der Apparat in diesem Falle die Kerngröße und die Kerndichte nicht richtig erfaßt hat oder ob das System des Scanning, die Durchmusterung in einer Ebene, dafür verantwortlich ist, konnte nicht ermittelt werden. Träfe letzteres zu, so würde die Praxis die Scanning-Theorie widerlegen.

3) Dyskaryosen ?

Der Parallelabstrich von Präp.Nr. 1487 beinhaltete Material der Pap-Gruppe V. Auf dem Film hingegen befinden sich 6 Dyskaryosen, die in die Gruppe III D eingeordmet werden mußten. Das ganze Präparat wurde überhaupt nicht markiert, d.h.von den Dyskaryo-

sen wurde keine einzige herausgefunden. Dies steht in Übereinklang mit der schon getroffenen Vermutung, daß Dyskaryosen nicht erfaßt würden (vgl.Kap.IV, Abschnitt 3).

4) Andere Ursachen?

Findet sich in Präparaten relativ viel Blut (wie in Präp.Nr. 38, 85, 109 der Tab.11), so vermag die Photozelle die neben Blut und Schleim aufgetragenen Zellen nicht mehr als einzelne Teilchen aufzulösen. Freilich sind im allgemeinen Abstriche selten, die Blut und Schleim vorweisen und trotzdem verwertbar sind. Außerdem kann Blut schon makroskopisch erkannt und der Abstrich verworfen bzw.wiederholt werden. Unter Umständen vermag die Photozelle aber auch Zellüberlagerungen oder Verklumpungen nicht zu trennen, was eine weitere denkbare Ursache für das Übersehen positiver Stellen wäre.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß jeweils individuell nach Präparat sowohl die Refraktärzeit, die Durchmusterungsmethode des Scanning- Systems, aber auch Verklumpungen und Überlagerungen von Zellen und die geringe Kerndichte von Dyskaryosen verantwortlich sind, wenn suspekte Stellen übersehen werden.

Weitere, noch unbekannte Ursachen sind nicht auszuschließen.

6) Die Wahl des richtigen Filters

Der Filter trägt der Kerndichte Rechnung. Sein Prinzip wurde eingangs bei der Beschreibung der "Viewing Machine" besprochen.

Man soll den Filter so wählen, daß dieser eine gewisse Trennlinie zwischen positiven und negativen Kernen bildet. Negative Kerne sollen weniger, positive Kerne mehr Licht als der Filter absorbieren.
Wieviel Licht ein Kern absorbiert, hängt auch von der Intensität der Färbung ab. Tolles (27), (28), der die theoretische Vorarbeit zum "Prinzip des Filters" lieferte, erwähnt, daß Präparate von verschiedenen Labors auch unterschiedliche Kerndichten aufweisen: Mit dem Auge bemerke man den Unterschied kaum, mittels einer photometrischen Messung werde er objektiviert. Umso mehr gilt der Unterschied, wenn eine Färbung, wie die VCSA- Färbung, darauf ausgerichtet ist, eine möglichst intensive Kernfärbung zu erzielen. Kurz, man wird die Kerndichte als Trennlinie zwischen positiven und negativen Präparaten individuell für jede Färbung herausfinden müssen. Dies gilt sogar für jede einzelne Färbemaschine gleichen Typs vom VCSA.
Die Firma Vickers empfahl, für unsere Maschine den Filter 4 zu verwenden. Wir benützten bei allen, positiven Präparaten hauptsächlich Filter 4 oder ein Filter tiefer, um dem Apparat eine größere Chance zu geben, da gemäß der Theorie (vgl. S 22) mehr Kerne erfaßt werden (allerdings auch mehr falsch positive), je tiefer man den Filter setzt.
Filter 5 ist zu dunkel, Filter 6 theoretisch loo% Licht absorbierend.

Um verschiedene Filter zu vergleichen, müßte man dieselben Präparate nochmals durchmustern lassen. Dies ist möglich, wenn man die Filmspule umdreht, also linke und rechte Seite vertauscht. Eine genaue Identität der Zellen, die auf die Photozelle geworfen werden, kann jedoch nicht erzielt werden, da:

1) das Gesichtsfeld unter dem Betrachtungsmikroskop größer ist als das der Photozelle; es kann also bei der zweiten Ein-

stellung um Bruchteile von mm verschoben werden.

2) def scan (die Durchmusterungslinie) auf Zellen fallen kann, die bei der ersten Durchmusterung im Spiegelzwischenraum lagen, wodurch sie nicht erfaßt wurden und umgekehrt.

Leider war es aus technischen Gründen nicht möglich, den überwiegenden Teil der Präparate ein zweites Mal durchmustern zu lassen, da die Vormusterungsmaschine nicht ordnungsgemäß arbeitete: der Punchblock deutete die Ergebnisse teilweise nur "akustisch" an, ohne Löcher zu stanzen, teilweise markierte er wirklich. Die Ergebnisse fielen außerdem so aus, daß man nach den bisherigen Erfahrungen an einen Defekt in der Elektronik denken mußte. Die Ergebnisse, die in diesem Zusammenhang verwertbar sind, werden aufgeführt:

a) Filterwahl - Punchzahl

Drei Bänder wurden ein zweites Mal markiert. Es ergab sich ein Ansteigen der Punchzahl mit der Wahl eines niedrigeren Filters (s. Tabelle 15).

Band Nr,	1. Durchmusterung Filter	Punches/Präp.	2. Durchmusterung Filter	Punches/Präp.
4	6	2,5	3	15
6	5	1	4	8
1o	4	11	3	15

Tabelle 15

Bei dem Versuch, Filter 2 zu verwenden, erreichten die ersten 1o neg. Präparate sofort die höchst mögliche Zahl der Punches/Präp (65 Punches), weshalb wir auf weitere Verwendung von Filter 2 verzichteten.

b) Filterwahl - positive Präparate

13 positive Präparate konnten wir mit anderem Filter nochmals markieren lassen; die erste und ausgewertete Durchmusterung ist in Tabelle 11 enthalten. Zum Vergleich wird sie hier nochmals angegeben (die Präparatnummern beziehen sich auf

die Durchnummerierung in Tabelle 11); die zweite Durchmusterung ist daneben gestellt. Es sind jeweils die gewählten Filter und die Anzahl der markierten positiven Gesichtsfelder aus unten stehender Tabelle 16 zu entnehmen.

Präp. Nr.	1.Durchmusterung		2.Durchmusterung		Anzahl d. pos.GF variable
	Filter	Anzahl d.pos. GF markiert	Filter	Anzahl d. pos.GF markiert	
1	2	1	5	1	5
2	2	ø	5	ø	2
3	2	ø	5	1	6
4	2	3	5	1	3
5	4	3	5	3	37
6	3	5	6	ø	üb.2o
7	4	5	5	2	üb.25
8	3	ø	5	ø	14
9	4	ø	3	ø	1
12	4	5	3	2	14
13	4	1	3	2	12
14	4	ø	3	ø	3
15	4	ø	3	ø	1

Tabelle 16

Aus dieser Zusammenstellung läßt sich eine gewisse Tendenz herauslesen, daß Filter 4 gegenüber Filter 5 geeigneter erscheint (Präp.Nr, 7, 12), während Filter 6 von vornherein ausscheidet.

In Tabelle 17 versuchten wir die positiven Präparate der Bänder 1o - 19, welche mit Filter 4 durchgemustert wurden, mit den Präparaten von Band 2o (mit Filter 3 durchgemustert) zu vergleichen. Da es sich nicht um dieselben Präparate handelt, ist diese Gegenüberstellung nur bedingt zulässig. Um die Kollektive einiger-

maßen nebeneinander stellen zu können, sind die Präparate für jeden Filter noch nach Anzahl der positiven Gesichtsfelder pro Präparat unterteilt:

Filterwahl: 1. Filter 3

von den vorhandenen pos.GF/Präp. wurden markiert	Pos.Gesichtsfelder pro Präparat							
	1-5 pos.GF		6-15		16-3o		üb.3o	
1oo% - 75%	-	-	-	-	-	-	6	45%
75% - 5o%	-	-	1	14%	1	17%	1	8%
5o% - 25%	1	17%	-	-	2	33%	2	15%
25% - 5%	-	-	1	14%	-	-	2	15%
5% - 1%	-	-	1	14%	3	5o%	1	8%
0%	5	83%	4	58%	-	-	1	8%
Summe:	6	1oo%	7	1oo%	6	1oo%	13	1oo%

2. Filter 4

von dem vorhandenen pos.GF/Präp. wurden markiert	Pos.Gesichtsfelder pro Präparat							
	1-5	pos.GF	6-15		16-3o		üb.3o	
1oo% - 75%	4	18%	1	6%	1	14%	15	52%
75% - 5o%	-	-	2	12%	-	-	1	4%
5o% - 25%	4	18%	7	41%	1	14%	5	17%
25% - 5%	-	-	4	23%	1	14%	3	1o%
5% - 1%	-	-	-	-	2	29%	3	1o%
0%	14	64%	3	18%	2	29%	2	7%
Summe:	22	1oo%	17	1oo%	7	1oo%	29	1oo%

Tabelle 17

Ergebnis: Fast jede Spalte mit derselben Anzahl positiver Gesichtsfelder zeigt, daß mit Filter 4 an einem höheren Prozentsatz von Präparaten ein größerer Prozent-

satz der vorhandenen pos, Stellen herausgefunden wurde.

In Anbetracht dieser Ergebnisse gilt Filter 4 als der optimale Filter für die hier durchgeführten Färbungen.

7. Variation des Limit der Kerngröße

Um die Zahl der falsch positiven Punches herabzusetzen, wurde bei Band 12 der Spielraum der Kerngröße, in der das Gerät markieren soll, verringert. Nicht wie bisher 12μ -18μ, sondern 14μ -18μ wurde eingestellt. Es konnten dieselben Präparate zweimal markiert werden, indem wir die Spule umdrehten. Paradoxerweise ergaben sich bei einem Spielraum von 14μ -18μ mehr Punches (1286) als bei einer Reichweite von 12μ -18μ (1071 Punches). Man kann es nur damit erklären, daß nicht genau die gleichen Stellen trotz derselben Präparate erfaßt werden (vgl.vorherigen Abschnitt, "Filterwahl").

Von den beiden positiven Präparaten wurde bei einem Präparat innerhalb des Limits 12μ -18μ ein positives Gesichtsfeld mehr markiert als bei 14μ -18μ. Bei dem anderen präparat wurde beide Male kein positiver Kern herausgefunden.

Eine Einengung des Kerngrößenspielraums erwies sich somit als nicht zweckmäßig.

V. Veränderung der Kerngröße durch den VCSA ?

In den eingangs erwähnten theoretischen Vorarbeiten, die zur Konstruktion des VCSA führten, wurden die Kernmessungen an auf herkömmliche Art hergestellten Präparaten behandelt.
Denkbar wäre es jedoch, daß die Zellkerne durch die unterschiedliche Fixierlösung (40% iger Alkohol im Gegebsatz zu 95% igem), durch die Aufbringung auf Band und durch das Passieren von Heißluft ihre Größe ändern, also schrumpfen oder aufquellen.
Würde dies eintreten, so könnte man nicht ohne weiteres die Ergebnisse dieser Kernmessungen für den VCSA verwerten. Aus diesem Grund verglichen wir die Kerngrößen von Präparaten auf Film mit denen des Parallelabstriches, welche auf übliche Weise hergestellt wurden.
Wir maßen von drei Präparaten jeweils hundert Kerne auf Objektträger und loo Kerne auf Band in zufälliger Reihenfolge.
Zu den Messungen verwendeten wir sowohl für Objektträger Präparate als auch für den Film ein Standardmikroskop und Okularmikrometer von Zeiss. Die einzelnen Filmpräparate hatten wir dazu aus der Gesamtspule herausgeschnitten. Als Präparate wurden gewählt:

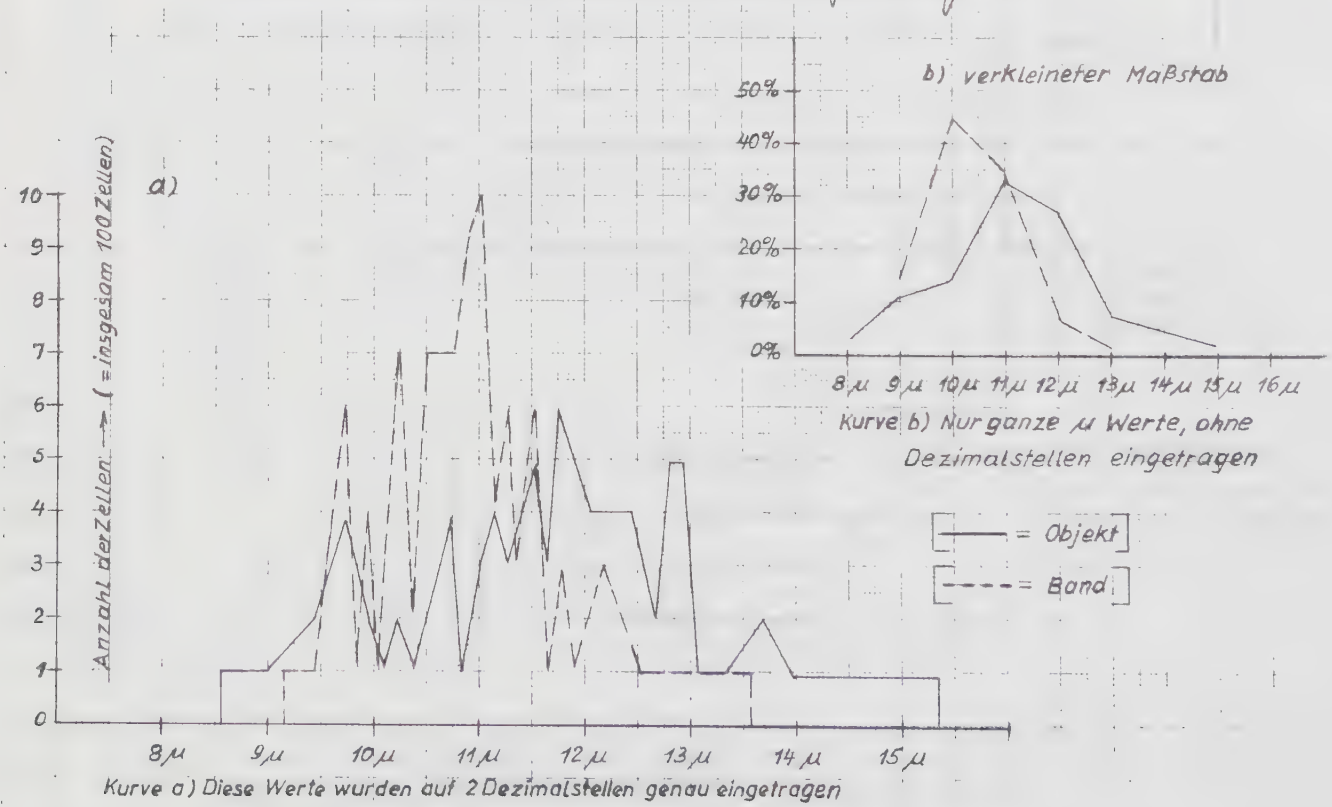
1. Präparat Nr. 703, Band ≙ Präp.Nr. 4682, Objektträger
Abstrich von derselben Patientin;
Cytolog.Beurteilung: Pap II
nur große Intermediärzellen
Leuko, bakt. Mischflora
entzündlich veränderte Kerne, autolytische Vorgänge.

2. Präparat Nr. 839, Band ≙ Präp.Nr. 5135, Objektträger;
Abstrich von derselben Patientin;
Cytolog.Beurteilung: Pap II
Proliferation 3-4; Leuko ++, Histio +
bakt. Mischflora; entzündliche Veränderungen; Umwandlungszellen.

3. Präparat Nr. 1465; Band ≙ Präp.Nr. 8395, Objektträger;
Abstrich von derselben Patientin;
cytolgg. Beurteilung: Pap V
Proliferation 3-4
Ery (Leuko) bakt.Mischflora
massenhaft atypische Zellen
plymorph, hypo- und hyperchromatische Kerne
klinische Diagnose: Collum tertium

Die Ergebnisse sind umseitig graphisch dargestellt. Die Kurven (——— = Objektträger; ----- = Band) decken sich in Anbetracht der zufälligen Kernauswahl und der relativ geringen Anzahl Messungen im großen und ganzen.
Schlüsse, daß sich die Kerne auf Band verändert hätten lassen sich nicht ziehen.

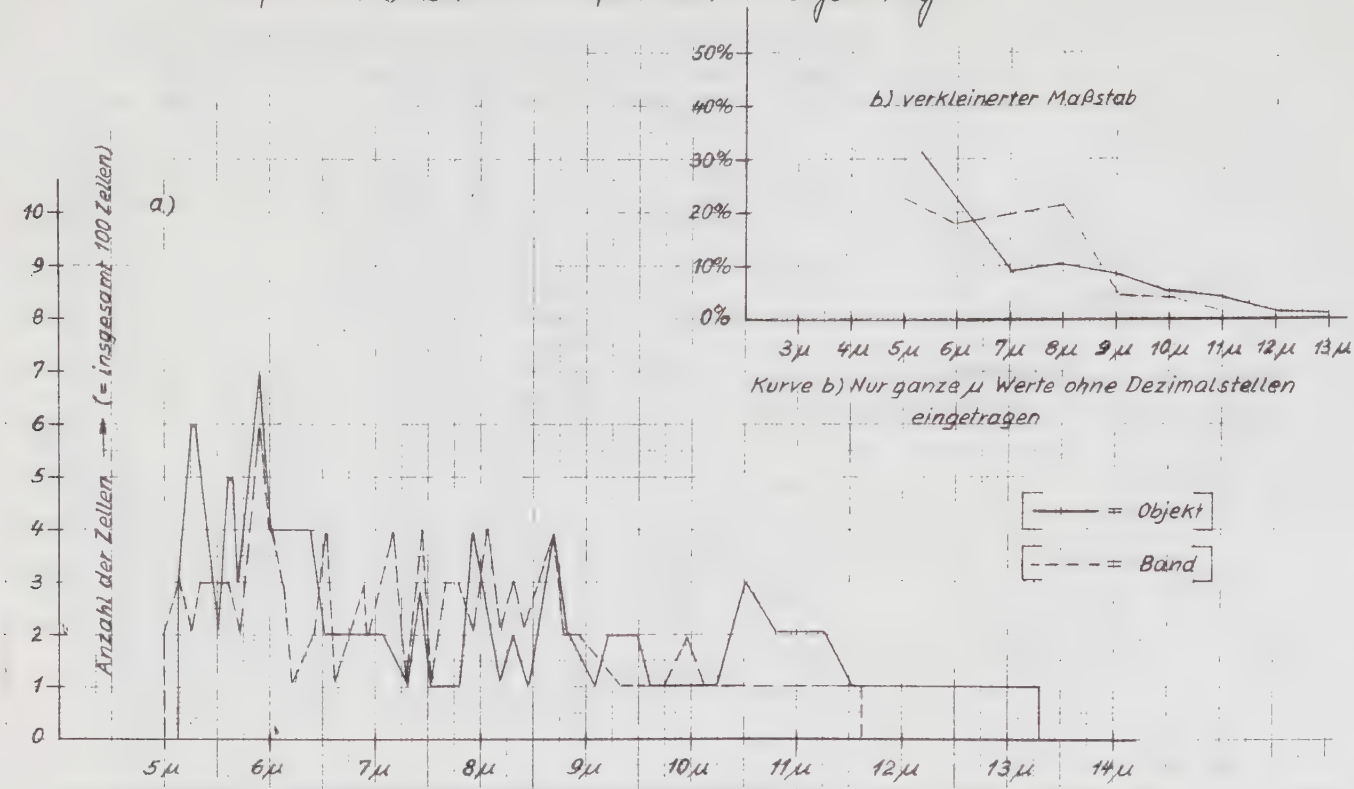
Präp. Nr. 703 Band ≙ Präp. Nr. 4682 Objektträger



Kurve a) Diese Werte wurden auf 2 Dezimalstellen genau eingetragen

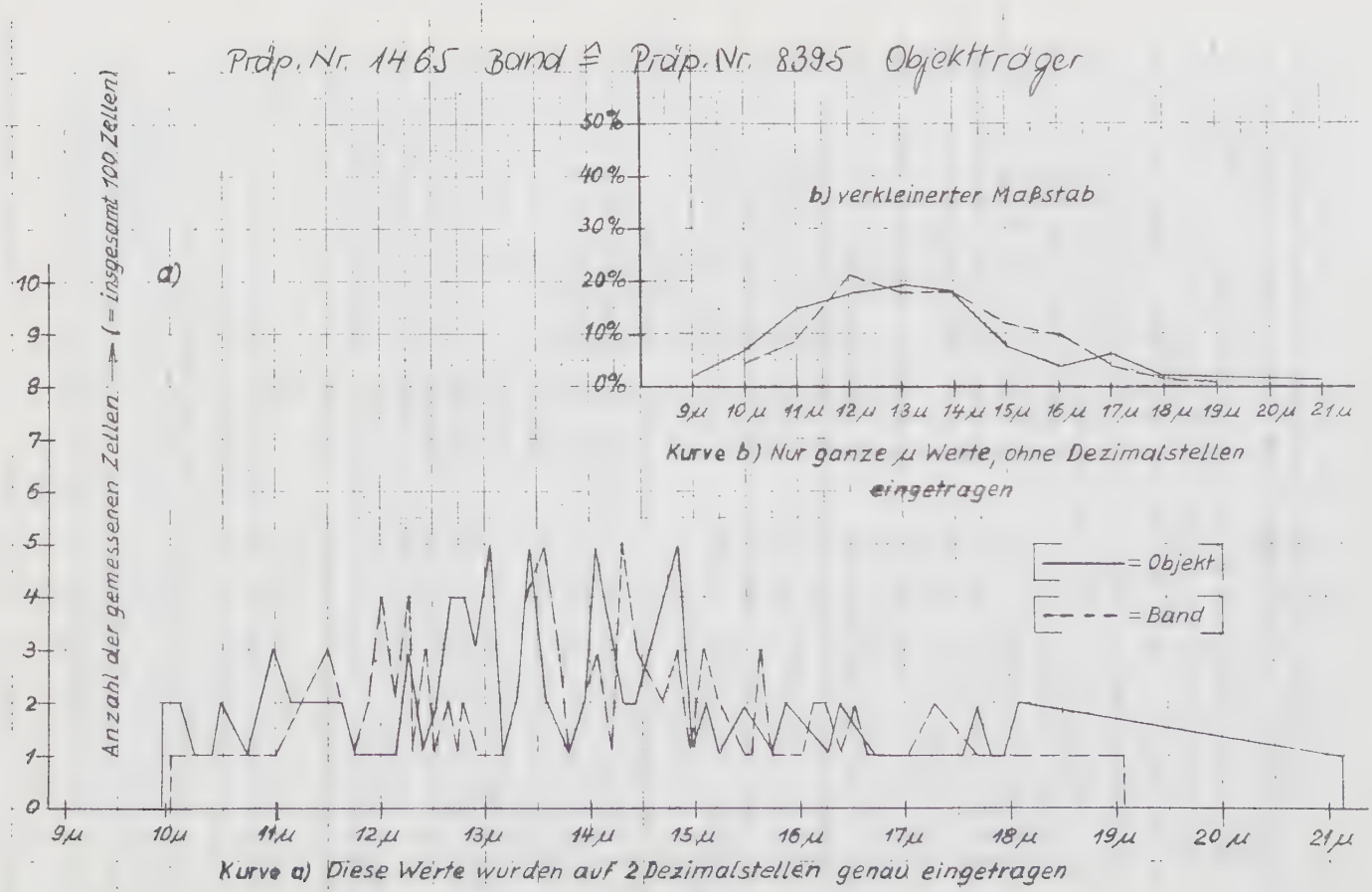
Kurve b) Nur ganze µ Werte, ohne Dezimalstellen eingetragen

Präp. Nr. 839 Band ≙ Präp. Nr. 5135 Objektträger



Kurve b) Nur ganze µ Werte ohne Dezimalstellen eingetragen

Kurve a) Die Werte wurden auf 2 Dezimalstellen genau eingetragen


Präp. Nr. 1465 Band ≙ Präp. Nr. 8395 Objektträger
b) verkleinerter Maßstab
50%
40%
30%
20%
10%
0%
9µ 10µ 11µ 12µ 13µ 14µ 15µ 16µ 17µ 18µ 19µ 20µ 21µ
Kurve b) Nur ganze µ Werte, ohne Dezimalstellen eingetragen
a)
Anzahl der gemessenen Zellen → (= insgesamt 100 Zellen)
= Objekt
= Band
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
9µ 10µ 11µ 12µ 13µ 14µ 15µ 16µ 17µ 18µ 19µ 20µ 21µ
Kurve a) Diese Werte wurden auf 2 Dezimalstellen genau eingetragen

VI. Der Zeitaufwand bei Herstellung und Durchmusterung von loo Präparaten

Da es sich bei dem VCSA um keinen Voll- sondern um einen Halbautomaten handelt, kann er Arbeitskräfte nicht entbehren. Doch wird ein großer Teil der Arbeit auf eine Hilfskraft verlagert und der zeitliche Aufwand für die cytologische Fachkraft wird eingeschränkt. Die Maschine könnte den Mangel an Fachkräften um über die Hälfte reduzieren oder, anders ausgedrückt, die Zahl der Abstriche mehr als verdoppeln (vgl.Tab.18).Für eine Fachkraft müssen bei der manuellen Durchmusterung von loo Präparaten nach der bisherigen Methode ca.lo Std. angesetzt werden. Dieselbe Fachkraft benötigt zur Nachmusterung der vom VCSA markierten Stellen pro loo Präp. ca.17o min, je nachdem, wieviele Markierungen der Film aufweist. Nimmt man an, daß bei loo Präp. mindestems 4 Präp. manuell bei "variable" durchgemustert werden müssen, so wird die Fachkraft weitere 3o min dazu verwenden müssen.
Die "variable" Durchmusterung des Films ist wesentlich anstrengender als die manuelle Durchmusterung eines Objektträgers. Die relativ lange Präparat-Strecke, die in einer Richtung, wenn auch mit selbst zu wählender Geschwindigkeit, unter dem Mikroskop vorüberzieht, ermüdet den Beschauer mehr als wenn er einen Objektträger unter dem Mikroskop verschieben kann.

Für eine Hilfskraft fallen bei dem VCSA mehr Arbeiten an. Das Zusammenstellen der Fixierlösung und das Abpipettieren von jeweils lo ml in loo Fixierröhrchen nehmen 6o min, die Vorbereitung der Auftragemaschine wie Reinigen, Film einlegen, Gummipipette aufrollen, 3o min und die Auftragung selbst 135 min in Anspruch. Diese Arbeiten entfallen bei der herkömmlichen Methode. Für die Färbevorbereitung wie Farben filtern, Reinigung und Inbetriebsetzung der Maschine bis zum automatischen Ablauf benötigt man je 3o min; dafür entfällt das Eindecken der Präparate. Da Präparate auf Objektträger ebenfalls mit Maschine gefärbt werden, bietet die Färbung mit dem VCSA keinen zusätzlichen Zeitgewinn.

In Tabelle 18 wurde der zeitliche Gewinn, den der Einsatz des VCSA bringen würde, zusammengestellt, bezogen auf 1oo Präparate. Während der Beobachtungszeit sollte die Hilfskraft anwesend sein um zu sehen, ob die Maschinen ordnungsgemäß laufen. Sie kann sich jedoch bereits wieder anderen Tätigkeiten widmen, wie Vorbereiten der nächsten Auftragung, Pipettieren u.ä.

1. VCSA

Arbeitsgang	Hilfskraft		Fachkraft
	Beobachtungs-zeit	Arbeitszeit	Arbeitszeit
Herstellen der Fixierlösung (Abpipettieren)	—	6o min	—
Vorbereitung der Auftragemaschine	—	3o min	—
Auftragevorgang	—	135 min	—
Vorbereitung d. Färbung (Beckenfüllung u.ä.)	—	3o min	—
Färbungsvorgang	9o min	3o min	—
Vorbereitung zur automat.Vormusterung (Reinigen)	—	15 min	—
automat.Vormusterung	15o min	—	—
Nachmustern: a) playback	—	—	17o min
b) variable bei angenommen 4 Präp.	—	—	3o min
Summe :	24o min = 4 Std.	3oo min = 5 Std.	2oo min = 3 Std,2o min
		9 Std.	
Gesamtsumme:	14 Stunden, 2o min.		

2. Cytolog. Labor

Arbeitsgang	Hilfskraft		Fachkraft
	Beobachtungs-zeit	Arbeitszeit	Arbeitszeit
Auftragung	—	—	—
Färbung:			
a) Vorbereitung	—	2o min	—
b) Färbungsvorgang	9o min	—	—
c) Eindecken	—	9o min	—
Durchmusterung	—	—	ca.6oo min
Summe:	9o min = 1 Std, 3o min	11o min = 1 Std, 5o min	6oo min = ca.1o Std.
	3 Std, 2o min		
Gesamtsumme:	13 Stunden, 2o min.		

Zeitaufwand für 1oo Präparate Tabelle 18

VII. Technische Mängel und Verbesserungen

Die 3 Maschinen erwiesen sich noch als sehr reparaturanfällig. Wir hatten des öfteren Mängel zu beklagen, die daraufhin von der Firma behoben wurden. Neue und alte technische Schwierigkeiten traten auf. Die Firma bemüht sich laufend um eine Verbesserung der Konstruktion. Aus diesem Grund sollten unten aufgeführte technische Fehler nicht überbewertete werden, da diese sich sicher eliminieren lassen, wenn die Mechanik durch stetige Fortentwicklung ausreift.
Im einzelnen mußten wir feststellen:

1) Bei der Auftragemaschine:

Die Maschine ist zu wenig staubgeschützt. Das Band läuft zu lange über offene Strecken, durch den Warmlufttrockner wird Staub aufgewirbelt. Die Absaugepumpe verstopft leicht. Die Vorrichtung, die die Zellen aufsaugt und auf das Band verteilt, arbeitete zuweilen nicht gleichmäßig, so daß derselbe Vorgang öfter wiederholt werden mußte, bis einigermaßen ausreichend Zellen auf Band gebracht waren. Dabei änderte sich die Transportgeschwindigkeit des Bandes manchmal abrupt von selbst.
Als Verbesserung wurde inzwischen hinter dem Warmlufttrockner ein Filter angebracht, der das Ansaugen von Staubteilchen verhindern soll. Die Gummipipette, die die Zellen aus dem Fixierröhrchen hochsaugt, kann nun, ebenfalls verbessert, nach jedem Gebrauchschräg abgezwickt werden. Das Ende der Pipette ähnelt damit einer Schreibfeder, während es bisher röhrenförmig war. Es soll damit eine dünnere Zellstraße eine bessere Materialverteilung auf Film erzielt werden. Diese Modifizierung konnten wir nicht mehr testen.

2. Bei der Färbemaschine:

Auch diese Maschine ist zu wenig staubgeschützt, sie ist von allen Seiten offen. Das Klebeband (Deckglasersatz) enthält gelegentlich Schlieren. Die Plastikbehälter für Farben, Alkohol etc. waren zu wenig haltbar, manche waren schon vor der ersten

Benutzung durchlässig. Sie wurden mittlerweile durch Metallbehälter ersetzt. Ebenso wurde eine neue, stabilere Hämatoxylinpumpe angebracht, da sich die alte als zu wenig widerstandsfähig erwies.

Bläschen im Eindeckmittel versuchten wir zu reduzieren, indem wir das DePex 2o min vor Beginn der Färbung in den Behälter füllten. Es würde sich empfehlen, die Austrittsöffnung der DePex- Spritze zu verbreitern: Der DePex- Strom könnte eine größere Fläche der Filmbreite bedecken. Die Randlinie des Eindeckmittels, oft Ursache falsch positiver Punches, wäre aus dem Gesichtsfeld gebannt, das Eindeckmittel wäre gleichmäßiger verteilt. Der erforderliche DePex- Strom ließe sich auch leichter einstellen.

Die Schweißstelle, die das um die Färberollen gewickelte Stückchen Leerfilm mit dem zu färbenden Film verbindet, riß häufig. Dabei mußte der begonnene Färbevorgang unterbrochen werden, die Becken wieder herabgezogen und die Stelle von neuem zusammengeschweißt werden. Abgesehen davon, daß der schon befeuchtete Film tropfte und teilweise auch die schon eingetauchten Präparate geschädigt wurden, erwies sich das Zusammenfügen der Filmteile als sehr mühsam.

3. Bei der Vormusterungsmaschine:

Auch hier wurde der Bandverlauf vor Staub zu wenig geschützt. Hartgummirollen, die den Transport des Bandes besorgen, nutzen sich schnell ab und schilfern Gummireste auf den Film. Die einmal gewählte Transportgeschwindigkeit des Bandes ist ungleichmäßig und scheint durch raschen Verschleiß noch schlechter kontrollierbar zu werden. Dem schnellen Vor- und Rücklauf mußte zuweilen manuell nachgeholfen werden, da er stockte, ebenso dem "playback", da der Film vor allem gegen Ende der Spule nicht mehr ausreichend befördert wurde.

Ein weiteres Problem taucht auf im Wiederfinden der ausgepunkteten Stellen. Bekanntlich rastet ein kleines Zahnrad in die am Filmrand gestanzten Löcher ein, wodurch der Bandlauf bei "playback" gestoppt wird. Hierbei sind die gekennzeichneten Gesichts-

felder nie ganz deckungsgleich. Wir markierten 4 Stellen und suchten sie je 2o mal bei playback wieder. Es ergaben sich Verschiebungen bis zu 1/2 Gesichtsfeld (s.Tab.19).

nach links ← Verschiebung → nach rechts										
1=eine GF-Breite	1	3/4	1/2	1/4	ø	1/4	1/2	3/4	1	
Punch A			–	8	6	6	–			2o Versuche
" B			1	1o	7	2	–			2o "
" C			3	6	6	4	1			2o "
" D			–	5	12	3	–			2o "
Summe:			4	29	31	15	1			8o Versuche

Gesichtsfeldkontrolle: Häufigkeitsverteilung der Verschiebung bei 8o Versuchen (4 markierte Stellen werden je 2o mal bei playback gesucht)

Tabelle 19

Zuweilen werden durch Punches gekennzeichnete Gesichtsfelder ganz übersprungen. Der "Punchblock" wurde dreimal ausgewechselt. Der zuletzt montierte Punchblock deutete Markierungen im Film häufig nur "akustisch" an, ohne Löcher herauszustanzen. Mit diesem Punchblock wurde keiner in dieser Arbeit ausgewerteten Filme bearbeitet.

Ursprünglich ließ sich der Mikroskoptisch nicht arretieren, so daß er sich um mehr als 1 mm in der Vertikalen verschieben konnte, was ein Wiederfinden der ausgewerteten Stellen illusorisch machte. Inzwischen wurde er mit einer Feststellungsvorrichtung versehen.

Zu Beginn der automatischen Durchmusterung müssen die Zellen auf dem weißen Schirm vor der Photozelle durch das Mikroskop scharf eingestellt werden. Eine fortwährende Fokussierung der Kerne setzt gleichbleibende Spannung des Films voraus. Ob diese vor allem gegen Ende der Spule noch gegeben ist, erscheint fraglich. Eine "wellige Linie" verstellt die Entfernung dauernd. Vielleicht wäre es vorteilhaft, die Scharfstellung der Zellen

jeweils dem Film angepaßt, zu automatisieren, damit zu normen und zu objektivieren, wie z.B. es bei einer vollautomatischen Kamera geschieht.

D Diskussion

1. Beurteilung des VCSA im jetzigen Zustand

Um den VCSA im jetzigen Zustand beurteilen zu können, ist von den bis dato gelieferten Ergebnissen auszugehen:

a) Erstes und wichtigstes Erfordernis für eine Vormusterungsmaschine ist, daß alle positiven Präparate richtig erfaßt werden. Diesen Beweis der Zuverlässigkeit konnte der VCSA nicht erbringen, da 28% der positiven Präparate an keiner entscheidenden Stelle markiert werden (vgl.Abschnitt IV, 2).
Überdies liegen in den gekennzeichneten Gesichtsfeldern, die tatsächlich positives Material beinhalten, zum Teil noch andere Ursachen vor, die auch zur Markierung hätten führen können.Dies ergibt sich daraus, daß Schmutzteilchen, Leukozyten usw. auch ohne die Anwesenheit positiver Zellen markiert werden (vgl.II,1)

Für die selektive Auswahl spricht, daß positive Präparate im Durchschnitt häufiger markiert werden als negative. Diese Erscheinung tritt aber nicht so spezifisch auf, daß sie diagnostisch hätte verwertet werden können: die Zahl der Markierungen steigt nämlich auch parallel zum Zellreichtum des Abstriches (vgl.III,2).

b) Da es sich um eine Vormusterungsmaschine handelt, muß man eine gewisse Anzahl falsch positiver Markierungen tolerieren. Sie sind sogar erwünscht, um dem Beschauer in einem Querschnitt durch das Präparat aufzuzeigen, ob sich überhaupt Material auf dem Film befindet. Jedoch markiert die Vormusterungsmaschine mit 19167 Punches (= 94,5 % d.Markierungen) eine hohe Anzahl anderweitiger Ursachen. Der zeitliche Gewinn für die cytolog. Fachkraft fällt dann kaum mehr zu Gewicht, wenn zu viele Gesichtsfelder nachgemustert werden müssen.

c) Die Technik des Gerätes kann noch nicht zufriedenstellen. Zu häufig treten Pannen auf, die den Ablauf einer schnellen Bearbeitung verhindern (vgl.Abschnitt VII). Diese Verzögerungen

sind in unserer Zeitaufstellung (s.Seite 77) nicht enthalten. Dadurch ergibt sich in der Praxis derzeitig noch ein größerer zeitlicher Aufwand als bei der bisherigen Methode.

2. Grundsätzliches Problem

a) Materialbeschaffenheit

Es fällt auf, daß trotz sorgfältiger Aufbereitung des Materials die Zellen entweder zusammengeballt oder nur spärlich verteilt auf dem Film sich finden. Ein Abstrich auf dem Objektträger erscheint demgegenüber durchschnittlich nicht nur reichhaltiger, sondern auch gleichmäßiger. Eine Ausnahme bilden lediglich die Spülabstriche. Da das mechanische Ankleben der Zellen durch Abrollen des Wattestäbchens auf dem Objektträger entfällt, müßten erst die elektrostatischen Voraussetzungen geschaffen werden, um eine annähernd gleichmäßige Zellverteilung auf dem Band zu gewährleisten.

Auf die zufällige und gleichmäßige Zellverteilung aber baut die Scanning Theorie auf (vgl.S.24). Ist nur eine geringe Anzahl suspekter Zellen in einem Präparat vorhanden, so wird die Chance, diese herauszufinden, wesentlich herabgesetzt, wenn jene Zellen verklumpt nur zu einigen wenigen Gesichtsfeldern anstelle einzeln über die ganze Präparatlänge verstreut vorliegen. Möglicherweise wurde in der Theorie die "Zufälligkeit" der Zellverteilung, die nach der bisherigen Erfahrung nicht in dem nötigen Ausmaß gegeben ist, überschätzt.

Die Färbung des laufenden Bandes ergibt zeitlich zu wenig abgestufte Färbeschritte. Dank der Zugabe konzentrierter Essigsäure in die Fixierlösung und mangels Salzsäure nach dem Hämatoxylinbad ist die Färbung ganz auf das Kriterium dunkler, dichter Kerne ausgerichtet. Kernstrukturen lassen sich deshalb nicht gut erkennen. Verdächtige Kerne können auf diese Weise viel eher mit Schmutz oder Artefakten verwechselt werden als dies bei normal gefärbten Kernen auf dem Objektträger möglich wäre.

b) Ausgewertete Materialmenge

Da ein Präparat auf dem Band nicht mehr Zellen enthält als auf

einem Objektträger, gibt es zu denken, daß bei der automatischen Durchmusterung nur ein Prozentsatz des Materials registriert wird. Davon sind noch die Refraktärzeiten nach dem Anpunkten abzuziehen - jeweils 1 sec - was 1cm Bandlänge entspricht(vgl.S.24).
Zwar wurde in der Theorie des Scanning Systems mathematisch dargelegt, daß mehr als genug Zellen erfaßt würden, jedoch erscheint die große Anzahl falsch positiver Markierungen, die eine wiederum hohe Zahl refraktärer Sperren zur Folge hat,nicht einbezogen worden zu sein.Ebenso gehen die theoretischen Vorarbeiten der Kerngrößenmessungen von Tolles (27),(28) von der Voraussetzung aus, daß nur vergrößerte Zellkerne, nicht etwa Leukozytenzusammenballungen und Schmutz markiert werden.

c) Das Kriterium der Kerngröße und Kerndichte
Bei der Routinediagnostik spielen eine Reihe von Faktoren eine Rolle, die zur Einstufung des Präparates maßgebend sind, wie z.B. Grad der Hyperchromasie, Chromatinverklumpungen, Unregelmäßigkeit der Kernzeichnung, Ausmaß der Kernvergrößerung, Verhältnis der Längsachse zur Querachse, unsymmetrische Chromatinverteilung und nicht zuletzt der Gesamteindruck des ganzen Präparates.
All diese Faktoren werden nun auf Kerngröße und Kerndichte reduziert, wobei die Normalverteilungen der Kerngröße sowohl unverdächtiger als auch verdächtiger Kerne sehr breitgipfelig und nahe beisammen liegen. Es erscheint problematisch, lediglich diese zwei Kriterien zur Unterscheidung von positiven und negativen Präparaten zu wählen.

3. Zukunftsaussichten und Verbesserungsvorschläge für den VCSA

Die Zukunftsaussichten des VCSA hängen in erster Linie davon ab, daß alle positiven Präparate erfaßt werden. Nach den theoretischen Vorarbeiten ist diese Möglichkeit gegeben. Um dies auch in der Praxis zu erreichen, könnten folgende Möglichkeiten ins Auge gefaßt werden:

a) Verbesserung der Materialaufbereitung:
Die Firma erprobt z.Zt. eine schleimlösende Substanz, welche eine bessere Verteilung der Zellen in der Fixierlösung erzielen soll, wodurch mehr und besser verteiltes Material auf Film gelangen würde. Ob dies allein die Zuverlässigkeit des VCSA herstellen wird, erscheint fraglich, da die von uns verwendeten Spülabstriche ebenfalls reichlich und gut verteiltes Material brachten.

b) Die Möglichkeit, daß positive Präparate, die fast kein Zellmaterial enthalten, aus diesem Grund übersehen werden, will Vickers eliminieren, indem ein Zusatzgerät entworfen werden soll, welches registriert, ob eine ausreichende Menge an Teilchen in dem Präparat vorhanden ist.

c) Wir haben festgestellt, daß positive Präparate mehr markiert werden als negative. Gleicher Zellreichtum vorausgesetzt, könnte sich ein Ansatzpunkt dahin ergeben, daß mit soeben erwähntem Zusatzgerät die Anzahl der Punches und der Zellreichtum in Relation gesetzt wird. Hierzu aber müßten falsch positive Ursachen, wie Schmutzteilchen, Leukozytenzusammenzusammenballungen usw. weitgehendst eliminiert werden. Dies könnte, technische Durchführbarkeit vorausgesetzt, dadurch erreicht werden, daß nicht nur ab einer gewissen Dichte, sondern auch nur bis zu einer gewissen Dichte das Teilchen registriert wird. Würde ein Teilchen nicht nur in einer Richtung durchgemessen werden sondern in mehreren Ebenen, würde die Größenordnung von 12μ - 18μ exakter erfaßt werden, womit man den theoretischen Grundvoraussetzungen näher käme.

Für den Fall, daß eine zuverlässige Arbeit in der Praxis mit der Maschine gegeben ist, empfiehlt es sich, den Auftragemechanismus für die Präparate vollends zu automatisieren, um die Effektivität des VCSA zu steigern.

Verbesserungen in kleineren technischen Details sind bei den in Abschnitt VII aufgeführten Mängeln angebracht.

E Anhang

Es wurde bereits erwähnt (S.86), daß die Firma Vickers eine schleimlösende Substanz erprobt, die eine bessere Zellverteilung in der Fixierlösung gewährleisten soll. Statt am Spatel zu haften sollen sich die Zellen im Fixierröhrchen setzen. Dadurch erhofft man, zellreichere Präparate auf dem Film zu gewinnen.

Wir untersuchten im Anschluß an diese Arbeit, als uns die schleimlösende Substanz zur Verfügung stand, an 3o positiven und 58 negativen Präparaten, ob sich durch die neue Fixierlösung Änderungen in unseren bisherigen Aussagen erzielen lassen. Im einzelnen sollen folgende Fragen geprüft werden:

- tritt eine Verbesserung der Qualität der Präparate ein?
- verringert sich die Zahl der falsch positiven Markierungen ?
- werden mehr als bisher positive Präparate erfaßt ?

Hierbei wird auf die bisherigen Ergebnisse dieser Arbeit jeweils zum Vergleich hingewiesen.

Die Firma Vickers schlug außerdem vor, das Kerngrößenlimit, d.h. den Spielraum, in welchem die Kerne gemessen werden, statt von 12μ - 18μ auf 12μ - 14μ zu begrenzen. Man wollte damit eine Verringerung falsch positiver Markierungen erreichen. Da uns diese Begrenzung zu eng erschien, wurde sie auf unseren Vorschlag hin auf 12μ - 16μ gesetzt.

I. Vickers schleimlösende Fixierlösung

Die schleimlösende Fixierlösung besteht aus:

Bestandteile	Menge
KH_2PO_4	6.8o gr
1n NaOH	29.6 ml
NaCl	2.92 gr

Bestandteile	Menge
Clelands Reagent	1 gr
abs. Alkohol	400.0 ml
Carbowax 1500	20,0 gr
destilliertes Wasser	ad 1 ltr.

Der p.H.Wert der Lösung soll auf 7.0 ± 0.05 eingestellt werden. Die Lösung wird wiederum durch ein Milliporesystem gefiltert (vgl.S.8)

CLELANDS Reagent kann als die entscheidende schleimlösende Substanz bezeichnet werden. Seine chemische Bezeichnung ist Dithiothreitol.

II. Material

Wir werteten 88 Präparate, die in dem schleimlösenden Mittel fixiert wurden, aus. (Arbeitsmethode s.S.26)
In Tabelle 20 wurden die Präparate, aufgeschlüsselt nach ihrer Herkunft, Abstrichentnahme und der Beurteilung des Parallelabstriches, eingetragen.

Diagnostik d.Parallel-abstriches	aus der Ambul.		aus der Strahlenabteil.			
	Spatel	Watte	Spatel	Watte	Spülabstr.	Summe
Pap I	13	9	2	1	–	25
Pap II	16	3	7	6	3	35
Pap III	–	–	4	3	–	7
Pap IV	–	–	1	1	1	3
Pap V	–	–	9	7	2	18
Summe	29	12	23	18	6	88

Tabelle 20

Da sich die neue Fixierlösung eigentlich nur bei Spatel- und Watteträgerabstrichen bewähren kann(Lösen der Zellen vom Spatel und Watteträger), wurde die Anzahl der Spülabstriche bewußt zugunsten der beiden anderen Abstricharten eingeschränkt.

III. Qualität der Präparate

1) Zellreichtum

Vorangestellt sei eine Übersicht über den Zellreichtum negativer und positiver Präparate.

negative Präparate (58)				in Tab.22 aufgeführte pos. Präparate (27)			
sehr zellreich	12 Präp.	(21%)		1 Präp.	(4%)		
zellreich	2o "	(35%)		3 "	(11%)		
mittel	1o "	(18%)		2 "	(7%)		
zellarm	3 "	(5%)	26%	11 "	(4o%)	77%	
(fast)kein Mat.	13 "	(21%)		1o "	(37%)		

Bei den negativen Präparaten sind 26%, bei den positiven 77 % als technisch unzureichend anzusehen. Vergleicht man diese Präparate mit den Präparaten, welche ohne schleimlösende Substanz fixiert wurden, (vgl.S.39), so ergibt sich:

a) Die negativen Spatel- und Watteträgerabstriche sind im allgemeinen zellreicher als früher; Cleland's Reagent löst Zellen vom Spatel und Watteträger.
Während vormals 4o % der Spatel und 5o % der Watteträger technisch nicht befriedigten, sind es jetzt 26 %.
Dennoch hatten wir mit Spülabstrichen weitaus bessere Ergebnisse erzielt: Nur 5,2 % der negativen Präparate stellten nicht zufrieden (vgl.S.39).

b) Bei positiven Präparaten konnte keine Verbesserung erzielt werden:
77 % der Präparate sind zellarm; früher wiesen 58 % der Spatel und 81 % der Watteträger wenig Material auf. Bei Spülabstrichen

waren lediglich 14 % zellarm.

2. Gesamteindruck

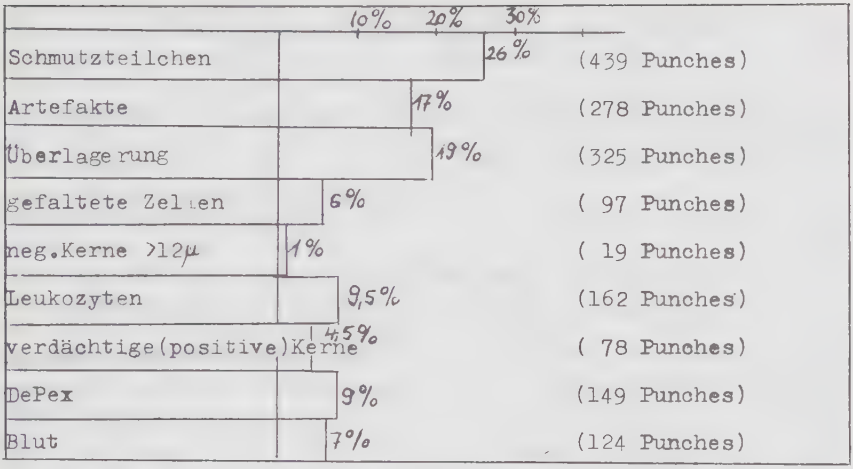
Weitaus mehr Blut als früher findet sich in positiven Präparaten und wird von der Maschine auch markiert. Eventuell ist das vermehrte Auftreten von Blut durch den Fortfall der Essigsäure in der Fixierlösung bedingt. Viele Präparate vermitteln durch verstreute rötliche Blutklumpen einen bisher ungewohnten Eindruck. Früher trat Blut hauptsächlich nur dann im Präparat auf, wenn es in solcher Menge vorhanden war, daß es bereits makroskopisch im Fixierröhrchen zu erkennen war.
Die überwiegende Anzahl negativer Präparate beeindruckt durch gut verteiltes, zellreiches Material. Trotz dieses ersten optischen Eindrucks fällt bei genauerer Analyse auf, daß in jedem Gesichtsfeld Zellen in Zweier- oder Dreiergruppen zusammengeballt sich finden. Dies erweist sich zwar für den Beschauer nicht als störend, die Maschine markiert aber zweifellos diese Überlagerungen.

IV. Verringert sich die Zahl falsch positiver Markierungen ?

Bei der automatischen Durchmusterung der 88 Präparate mit Filter 4 und Filter 3 ergab sich folgende Anzahl von Punches:

Band Nr.	Präp.	Punches (Filter 3)	Pun/Präp. (Filter 3)	Punches (Filter 4)	Pun/Präp. (Filter 4)
21	64	1506	23	76o	12
22	24	168	7	118	5
zus.:	88	1674	19	878	1o

Nach der auf Seite 3o beschriebenen Arbeitsmethode wurden wiederum die Ursachen, die zu einer Auslösung der Punches führten, untersucht: Das Ergebnis zeigt Tabelle 21 :



Auswertung der Punchursachen;88 Präp.; bei Filter 3: 1674 Pun.

Tabelle 21

Obwohl diese Auswertung unabhängig von unserer bisherigen Aufstellung der Punchursachen durchgeführt wurde, läßt ein Rückblick auf Tabelle 2a S.32 vor Augen führen, daß sich in diesem Punkt nichts wesentliches durch die neue Fixierlösung geändert hat.

95,5 % (bisher 94,5 %) bestätigen sich als falsch positiv.

7 % der Punches wurden wahrscheinlich durch zarte rötliche Blutverklumpungen aufgelöst, die erstmals in diesem Ausmaß auftraten. Leukozyten nehmen mit 7,5 % einen etwas breiteren Raum als vordem (3,5%) ein.

Der Vermutung der Firma Vickers (persönliche Mitteilung), daß der überwiegende Teil falsch positiver Punches fast nur durch Leukozyten ausgelöst wird,muß dahingehend widersprochen werden, daß auch Präparate, die Leukozyten entbehren, genauso häufig markiert werden als leukozytenreiche Präparate. So wurde z.B. Präp.Nr. 1663 mit 29 Punches überdurchschnittlich häufig gekennzeichnet, obwohl es äußerst leukozytenarm ist; andererseits wurden bei Präp.Nr. 1656 (16 Punches) lange Strecken, voll von Leukozyten, nicht markiert.

Schmutzteilchen, Färbeartefakte und Überlagerungen stellen nach

wie vor das größte Kontingent falsch positiver Punches.

V. Verbessert die schleimlösende Fixierlösung die Erfassung positiver Präparate ?

Es standen 27 Präparate mit positivem Zellmaterial auf Film zur Verfügung.
Unsere Arbeitsweise der Auswertung ist identisch mit der auf Seite 51 geschilderten. Tabelle 22, aus der die Ergebnisse ersichtlich sind, ist analog zur Tabelle 11 S 53 aufgebaut (Erläuterungen siehe dort!)
Die Präparate wurden sowohl mit Filter 3 als auch mit Filter 4 automatisch durchgemustert.

Band Nr. 21

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reichtum	variable		playback			
			pos. G.F.	Pap.Gr.	Filter 3		Filter 4	
					Punch-zahl	davon pos,GF	Punch zahl	davon pos. GF.
1) III	1613	4	11	III	1o	3	6	ø
2) V	1617	4	14	III	12	ø	9	ø
3) III	1618	4	7	III	23	ø	9	3
4) III	162o	4	12	IV	28	6	14	9
5) III	1622	4	1o	IV	25	3	8	ø
6) V	1623	2	üb.3o	IV	33	8	13	8
7) V	1625	4	13	III	16	2	6	3
8) V	1626	4	üb.3o	V	25	7	12	9
9) V	1627	5	5	III	16	1	7	2
1o) III	1628	5	12	V	13	ø	4	ø
11) V	163o	4	2o	IV	2o	4	12	6
12) V	1631	2	2o	V	31	4	13	9

Cytol. Labor Pap.Gr.	Präp. Nr.	Zell-reich-tum	variable		playback			
			pos. GF.	Pap.Gr.	Filter 3 Punch-zahl	Filter 3 davon pos,GF	Filter 4 Punch-zahl	Filter 4 davon pos.GF
13) III	1634	5	4	III	14	ø	9	ø
14) V	1635	4	8	V	15	2	1o	2
15) V	1637	5	7	III	2o	ø	6	ø
16) V	1638	3	üb.3o	V	33	13	21	14
17) II	1639	5	1(4?)	IIID	21	ø	2	ø
Band Nr.22								
18) V	1673	5	9	III	2	ø	1	ø
19) V	1674	3	üb.3o	V	5	1	2	ø
2o) V	1675	5	26	IV	3	ø	2	ø
21) IV	1676	4	18	V	12	3	7	ø
22) IV	1677	1	üb.3o	V	17	13	5	4
23) IV	1678	5	18	V	12	2	7	ø
24) V	1679	5	13	V	11	1(?)	4	ø
25) V	168o	2	üb.3o	V	6	4	9	5
26) V	1681	5	17	V	12	ø	9	ø
27) II	1687	4	2	III	3	ø	7	ø

27 positive Präparate, in schleimlösender Fixierlösung fixiert.

Tabelle 22

1) Ergebnis aus Tabelle 22

Von den bei variable (d.h.insgesamt auf dem Film sich befindenden) positiven Gesichtsfeldern pro Präparat wurden markiert:

	Filter 3	Filter 4
100% - 75% d.pos.GF bei:	—	bei 1 Präp.≙ 4%
75% - 50% d.pos.GF bei:	1 Präp.≙ 4%	—
50% - 25% d.pos.GF bei:	4 " ≙ 14%	6 Präp.≙ 22%
25% - 5% d.pos.GF bei:	10 " ≙ 37%	5 " ≙ 19%
5% - 0% d.pos.GF bei:	2 " ≙ 7%	—
0% d.pos.GF bei:	10 " ≙ 37%	15 Präp.≙ 55%
	27 Präp. ≙100%	27 Präp.≙100%

Wir erhielten in 37% der Fälle bei Filter 3 und in 55% der Fälle bei Filter 4 falsch negative Präparate. Keines dieser Präparate wurde an einer suspekten oder positiven Stelle gekennzeichnet. Damit liegt die Quote der falsch negativen Präparate über unseren bisherigen Ergebnissen von 28% falsch negativen Präparaten.
Das jetzt sogar schlechtere Ergebnis läßt sich wohl dadurch erklären, daß im Gegensatz zu früher fast keine Spülabstriche verwandt wurden.
Ebenso scheint sich die Herabsetzung des Kernlimits auf 12-16 µ nicht zu bewähren.

2. Besprechung einzelner Präparate der Tabelle 22

Die Parallelabstriche von 3 Präparaten wurden im cytologischen Labor in die Pap.-Gruppe III-V eingestuft; sie enthielten jedoch auf dem Film kein verdächtiges Zellmaterial und wurden nicht aufgeführt.
Umgekehrt bot Präparat Nr. 1639 1 Dysplasie und 4 fragliche Stellen und Präparat Nr.1687 2 suspekte Stellen auf dem Film, während die Parallelabstriche mit Pap.II diagnostiziert werden mußten. Keine dieser verdächtigen Zellen wurde von der Maschine herausgefunden.

Die Präparate Nr. 1617, 1634, 1637, 1673 enthalten qualitativ schlechtes Zellmaterial. Würde man sie, obwohl die wenigen vor-

handenen Zellgruppen als ~~als~~ positiv bzw. suspekt bewertet werden, müssen, nicht berücksichtigen, so ergäbe sich immerhin noch ein Prozentsatz von 23% falsch negativen Präparaten bei Filter 3.

Bei Präparat Nr. 1674, 1677, 1680 handelt es sich um Spülabstriche. Sie wiesen jeweils über 30 Gesichtsfelder mit positivem Zellmaterial auf. In Präparat 1674 scheint die dichte Lage der Zellen das Auflösungsvermögen der Photozelle blockiert zu haben.

3. Filterwahl

Vergleicht man die Anzahl der Präparate, bei welchen jeweils Filter 3 mehr suspekte Stellen als Filter 4 herausgefunden hat und umgekehrt, so ergibt sich:

Filter 3 besser als Filter 4 bei:	Filter 3 gleich Filter 4 bei:	Filter 4 besser als Filter 3 bei:
Präp. Nr. 1613	Präp. Nr. 1617	Präp. Nr. 1618
1622	1623	1620
1628	1634	1625
1674	1635	1626
1676	1637	1630
1677	1639	1627
1678	1673	1631
1679	1675	1638
	1681	1680
	1687	
Summe: 8 Präp.	10 Präp.	9 Präp.

In 8 Präparaten markierte Filter 3 mehr suspekte Stellen als Filter 4, bei 9 Präparaten verhält es sich umgekehrt, bei 10 Präparaten erwiesen sich Filter 3 und Filter 4 gleich.

Trotz dieser Aufstellung und auch im Gegensatz zu der auf Seite 73 getroffenen Feststellung brachte Filter 3 in dieser Versuchsreihe mit 37% falsch negativen Präparaten ein insgesamt günstigeres Ergebnis als Filter 4 mit mit 55% falsch negativen Präparaten. Es sei jedoch daran erinnert, daß bei den 33 Präparaten der ersten Versuchsreihe (s.Tab.11,S.58 Präp.Nr. 84-116),die mit Filter 3 automatisch durchmustert wurden, der Prozentsatz falsch negativer Präparate mit 3o% über dem Durchschnitt (28%) lag. Das führte u.a.dazu, Filter 4 als den geeigneten anzusehen (vgl.S 7o-74).

VI. Zusammenfassende Beurteilung dieser Ergebnisse

1. Beurteilung der Präparate

Die schleimlösende Fixierlösung verbessert (auf Film) die Qualität von Spatel und Watteträgerabstrichen im Vergleich zu früher.
Bei positiven Präparaten jedoch ermangelt es nach wie vor an positivem Zellamterial und an Qualität. Das Risiko, technisch unzureichende Präparate zu erhalten, liegt bei der VCSA- Bearbeitungsmethode erheblich höher als bei Abstrichen auf Objektträger.
Spülabstriche bieten mit und ohne schleimlösende Fixierung die besten Präparate auf Film.
Sie liefern auch im Vergleich zu Watte- und Spatelabstrichen die relativ größte Menge an positivem Zellmaterial auf dem Band.

2. Beurteilung der Entdeckungsrate von positiven Präparaten

Da durch die schleimlösende Substanz die Qualität von Spülabstrichen nicht übertroffen wurde, war eine höhere Entdeckungsrate nicht zu erwarten.
In den Versuchen mit schleimlösender Fixierung betrug sie 63%. Nach den früheren Ergebnissen 72%. Eine Verbesserung konnte also nicht erzielt werden.

Man wird die Entdeckungsrate des VCSA nach unseren Ergebnissen zwischen 60% bis 75% einstufen müssen. Die schleimlösende Fixierung bedeutet eine gewisse Verbesserung - die entscheidende Verbesserung ist sie noch nicht.

Da die Zytodiagnostik eine Treffsicherheit von annähernd 95% aufweist, wird dieses Niveau durch Bearbeitung der Präparate mit dem VCSA noch nicht erreicht.

F Zusammenfassung

Wir ließen 1473 Zellabstriche, darunter 187 Präparate von Carcinoma oder ihren Vorstadien von dem VCSA automatisch durchmustern; die Kontrolle erfolgete durch Parallelabstriche.

Nur in 115 der 187 positiven Präparate fand sich positives Zellmaterial auch auf dem Film. Wir variierten die Methode der Abstrichentnahme: Spatel-, Watte-, Spülabstrich. Letzterer brachte die besten Ergebnisse für den VCSA. Eine Änderung des Kerngrößenlimits anstelle von 12 μ-18 μ auf 14 μ-18 μ bewährte sich nicht.
Wir markierten mit verschiedenen Filtern, wobei Filter 4 sich als der geeignetste erwies.

Bei einem Durchschnitt von ca. 13 Punches/Präparat wurden 2o3o2 Gesichtsfelder von der Maschine gekennzeichnet. Die Anzahl der Markierungen scheint hauptsächlich von dem Zellreichtum des Präparates, aber auch von einer etwaigen Malignität abzuhängen.

Die markierten Gesichtsfelder wurden nachgemustert und die zur Markierung führenden Ursachen aufgezeigt:
94,5% der Punches erwiesen sich als falsch positiv: Vergrößerte Kerne werden mit Schmutzteilchen, Färbeartefakten, Zellüberlagerungen, Leukozyten u.a. verwechselt.
Die 115 Präparate mit positivem Zellmaterial auf dem Film wurden nach dem Gesichtspunkt ausgewertet, wieviele der vorhandenen positiven Gesichtsfelder vom VCSA markiert wurden. In 28% der Präparate wurde keines dieser Gesichtsfelder herausgefunden. Die Entdeckungsrate des VCSA ist mit 6o% bis 75% anzusetzen. Es wird diskutiert, welche Ursachen zu einem Übersehen positiver Stellen führen könnten. Unter anderem fiel auf, daß Zellen von dysplastischem Epithel häufig nicht markiert wurden.
Mit einigen Kernmessungen wird untersucht, ob sich die auf Film aufgebrachten Kerne durch die Auftrageprozedur verändert hätten, was man verneinen muß.

Nach Beendigung dieser Arbeit stand eine schleimlösende Fixierlösung zur Verfügung. Wir erprobten sie an weiteren 88 Präparaten. Die Ergebnisse sind im Anhang dargestellt: Wesentliche Änderungen zu den bisherigen Ergebnissen konnten nicht gefunden werden; so wurde weder eine Erhöhung der Entdeckungsrate positiver Präparate noch eine Verringerung falsch positiver Punches erzielt.

Der Zeitaufwand für loo Präparate, bearbeitet mit dem VCSA, wurde dem Zeitaufwand bisheriger manueller Untersuchung gegenübergestellt: Zweifellos würde der Einsatz des VCSA einen erheblichen Zeitgewinn für die cytologische Fachkraft bieten. Die Zahl der Abstriche könnte um über die Hälfte verdoppelt werden, bzw. der Mangel an Fachkräften um über 5o% reduziert werden.

Als zusammenfassendes Ergebnis mußte jedoch festgestellt werden, daß der VCSA nach dem gegenwärtigen Stand der Entwicklung zur automatischen Vormusterung von Zellabstrichen nicht einsatzfähig ist.

L I T E R A T U R

1) BARTELS, P.H.; G.L.WIED; G.F.BAHR; Cell Recognition from Equiprobable Extinction Range Contours Acta Cytol.12, S 212 - 217 (1968)

2) BLONK, D.I. Cytochemical Examination of Lactic Dehydrogenase and Glycose-6-Phosphate Dehydrogenase in Smears from the Uterine Cervic Acta Cytol.13, S 264 - 269 (1969)

3) BODDINGTON, M.M.; DIAMOND, R.A.; Apparatus for Automatic Preparation and Scanning in Cervical Cytology; British Medical Journal 3, S 16o - 161 (1967)

4) BOSTROM, R.C.; TOLLES, W.E.; C.C.SPENCER; Technological Progress of the Cytoanalyzer Acta Cytol.6, S 417 - 422 (1962)

5) DIACUMAKOS, E.G.; Day,E.; KOPAC,M.J.; Further Development of the Cytoanalyzer Acta Cytol.6, S 238 - 244 (1962)

6) DIACUMAKOS, E.G.; DAY,E.; KOPAC,M.J.; Further Development and Evaluation of the Cytoanalyzer Acta Cytol.6, S 423 - 428 (1962)

7) DIAMOND, R.A.; Enlarged Nuclei as a Criterion in Cervical Cytology and their Application to a Pre-Screening Device unveröffentlicht

8) DIAMOND, R.A.; Automatic Preparation Staining and Scanning of the Cervical Smear Specimens The Microscope 16, S 227 - 23o (1968)

9) FLASKAMP, W.; WEBER,M.; ZINSER,K.H.; Zur Methodik der Fährtensuche beim Gebärmutterhalskrebs Rheinisches Ärzteblatt Heft 2o, (1968)

10) LÖWHAGEN T.; NASIELL M.; GRANBERG I.; Acridine Orange Cytology in Delection of Cervical Carcinoma
Acta Cytol.10, S 194 - 196 (1966)

11) LONGNECKER D.S.; WHITE Ch.A.; Trial of Simplified Vaginal Fluid 6-Phosphogluconic Dehydrogenase Assay Method in Screening for Cancer
Acta Cytol.11, S 202 - 204 (1967)

12) MASIN F.; MASIN M.; Cell Distribution Technique
Acta Cytol.13, S 541 - 542 (1969)

13) Mc MASTER G.W.; A Measurement of the Pattern of Normal and Malignant Cervical Cells
Acty Cytol.12, S 9 - 14 (1968)

14) MENDELSOHN M.L.; KOLMAN W.A.; PERRY B.; PREWITT S.M.S Morphological Analysis of Cells and Chromosomes by Digital Computer
Methods of Information in Medicine Vol IV Nr.4, S 163 - 167 (1965)

15) MEYER E.W.; "Slit Scanning" Tenevous Symposia, Cardiff (1968)

16) MEYER E.W.; "Vickers Continous Film" Tenevous Symposia Cardiff (1968)

17) MEYER E.W.; "Cervical Screening - the Automation of a Laboratory Process"
Vickers Magasine No 2 (1968)

18) MEYER E.W.; FARQUAHAR E.G.M.; "A Comparison between Diamond's Size Criteria and the Intercept Scanning Theory and Geometry of Scanning of the VCSA " Vickers Instruments (1968)

19) MONTANARI G.D.; ABELLI G.; MARCONATO A.; GRISMONDI G.L GIARETTA M.J.; MONTANARI G.R.;
A Comperative Analysis of the MTTS Method of Ku Chien-Jen for the Cytochemical Diagnosis of Carcinoma of the Cervix

Acta Cytol.11, S 1o9 - 113 (1967)

2o) NADEL E.M. Computer Analysis of Cytophotometric Fields by CYDAC and its Historical Evolution from the Cytoanalyzer
Acta Cytol.9 , S 2o3 - 2o6 (1965)

21) REAGAN J.W.; HAMONIC M.J.; WENTZ W.B.; Analytic Study of the Cells in Cervical Squamous -Cell Cancer Laboratory Investigation 6
S.241 -25o (1967)

22) SCHWARZ K.H.; Kernmessungen , Inauguraldissertation

23) SOOST H.J.; Aktuelle Probleme der Ausbildung von Ärzten und Assistentinnen in der Zytodiagnostik;
Dtsch.Ärzteblatt 65. Jahrgang (1968) S 27o7

24) SPENCER C.C.; BOSTROM R.C.; Performance of the Cytoanalyzer in Recent Clinical Trials
J.Nat.Cancer Institute 32 , S 1221 - 1228 (1964)

25) SPRIGGS A.I.; DIAMOND R.A.; MEYER E.W.; Automated Screening for Cervical Smears?
The Lancet 1 S 359 - 36o 17.Febr.1968

26) STEVENSON J.; The Accuracy of Fluorescence Mikroscopy for the Diagnosis of Cancer
Acta Cytol.8 , S 224 - 233 (1964)

27) TOLLES W.E. HORVATH W.J.;BOSTROM R.C.; A Study of the Quantitative Characteristics of Exfoliated Cells from the Female Genital Tract I, Measurement Methods and Results
Cancer 14, S 437 - 454 (1961)

28) TOLLES W.E. HORVATH W.J. ;BOSTROM R.C.; A Study of the Quantitative Characteristics of Exfoliated Cells from the Female Genital Tract

for Automatic Prescreening
II. Suitability of Quantitative Cytological Measure Cancer 14, S 455 - 468 (1961)

29) WIED G.L.; MESSINA A.M.; MEIER P.; BLOUGH R.R.;
Fluorospectrophotometric Analysis on Cervical Epithelial Cells
Acta Cytol. 8, S 61 - 67 (1964)

30) WIED G.L.;
Computers or Cytotechnologists?
Acta Cytol. 12, S 1 - 2 (1968)

31) WIED G.L.; BARTELS P.H.; BAHR G.F.; OLDFIELD D.G.;
Taxonomic Intra-Cellular Analytic System (TICAS) for Cell Identification
Acta Cytol. 12, S 18o - 204 (1968)

32) WIED G.L.; BAHR G.F.; OLDFIELD D.G.; BARTELS P.H.;
Computer-Assisted Identification of Cells from Uterine Adenocarcinoma. A Clinical Feasibility Study with TICAS
I. Measurement at Wavelength 53o mm
Acta Cytol. 12, S 357 - 37o (1968)

33) WIED G.L.; BIBBO M.; BAHR G.F.; BARTELS P.H.;
Computerized Recognition of Uterine Glandular Cells
I. Assessment of a Self-Optimizing Recognition Program
Acta Cytol. 13, S 611 - 619 (1969)

34) WIED G.L.; BIBBO M.; BAHR G.F.; BARTELS P.H.;
Computerized Recognition of Uterine Gandular Cells
II. The Application of a Self-Learning Program
Acta Cytol. 13, S 662 - 671 (1969)

Mein besonderer Dank gilt meinem verehrten Doktorvater, Herrn Professor Dr.med. H.-J. Soost, für die Überlassung der Arbeit, für seine Unterstützung bei allen auftauchenden Schwierig - keiten und für seine wertvollen Ratschläge.

Außerdem danke ich Herrn Dr.med. J.Gneist für die Einführung in die Problematik und für seine tatkräftige Mithilfe.

Frau E.Fendt möchte ich meinen herzlichen Dank für die Durch- musterung und Kontrolle sämtlicher positiver Präparate aussprechen.

Lebenslauf :

Ich wurde am 3.12.45 als Sohn von Klara Bauer,geb.Paulus und Ludwig Bauer,Kriminalbeamter in München geboren.
Mein Vater verstarb 1954 an Kriegsfolgen.
Vier Jahre besuchte ich die Volksschule,hierauf neun Jahre das Wittelsbacher Gymnasium München,wo ich im Juli 1965 das Abitur ablegte.
Anschließend studierte ich in München Medizin.
Das Staatsexamen bestand ich am 9.Februar 1972.